[Dal Laboratorio di Patologia generale
del R. Istituto di Studi Superiori di Firenze, diretto dal Prof. A. Lustig].

I NEOPLASMI DI ORIGINE INFETTIVA.

(Con 4 tavole).

Tesi per la Libera Docenza in Patologia generale.

Dott. A. FRANCHETTI, Aiuto.

Estratto dallo Sperimentale (Archivio di Biologia normale e patologica)
Anno LXIV - Fasc. V — Settembre-Ottobre, 1910.

[Dal Laboratorio di Patologia generale
del R. Istituto di Studi Superiori di Firenze, diretto dal Prof. A. Lustig].

I NEOPLASMI DI ORIGINE INFETTIVA.

(Con 4 tavole).

Tesi per la Libera Docenza in Patologia generale.

Dott. A. FRANCHETTI, Aiuto.

Introduzione.

Colla parola *neoplasmi* si suole per lo più indicare quel gruppo di neoformazioni che si distinguono da altri gruppi di tumori in genere, principalmente per i loro caratteri di autonomia e di indipendenza di sviluppo, rispetto all'organo o al tessuto matrice, di mancanza di finalità nello sviluppo stesso e sopratutto per l'assenza di un agente eziologico, che valga a spiegarne l'origine. Spesso anzi si contrappongono addirittura i neoplasmi veri e propri agli altri tumori e segnatamente ai tumori dovuti a causa infettiva ben nota. Sembrerebbe dunque, a prima vista, che tra neoplasmi e infezione esistesse una opposizione recisa e che l'un concetto escludesse l'altro.

Accogliendo invece il termine *neoplasmi* come sinonimo di tumori si può agevolmente far rientrare sotto quest' unica denominazione generale tanto i tumori infettivi, quanto l'altra categoria di tumori a causa ignota, che vengono indicati comunemente come neoplasmi veri e propri, nello stretto senso della parola.

A parte del resto la questione dei nomi, che già tanto è stata dibattuta, e considerando i tumori in genere, nel più vasto senso dell'espressione, possiamo affermare che, mentre una grande categoria di essi — e sono appunto i tumori infettivi o granulomi —

sono perfettamente noti nelle loro particolarità istologiche ed eziologiche (tubercolomi, sifilomi, ecc.), tutti gli altri, e cioè i neoplasmi veri e propri, costituiscono ancora un campo d'indagine pieno di problemi e di incognite; perchè, se il loro studio anatomo-patologico è stato sufficientemente approfondito, non può dirsi lo stesso della loro eziologia. Principalmente i tumori maligni offrono alla ricerca le questioni più interessanti, e nelle loro manifestazioni cliniche, ed anche talora in quelle anatomo-patologiche, presentano qualche volta tali analogie con alcune forme d'infezione, che la origine infettiva, per questa specie di neoplasmi, non solo fu spesso portata in discussione, ma anche strenuamente sostenuta da un gran numero di osservatori. Ed infatti i tumori maligni, coi loro molteplici tipi, se da un lato si congiungono per gradi di passaggio insensibili con quelli benigni, pei quali un'origine infettiva viene generalmente esclusa, dall'altro si riannodano con una serie di forme di transizione ad altri tumori, la cui natura infettiva è spesso ammessa od anche per alcuni dimostrata, ed ai veri granulomi.

Se infine vogliamo tener conto della opinione di numerosi patologi, anche fra i più moderni e competenti (*Ehrlich*), che si debba per i tumori ammettere una molteplicità eziologica, non è da escludere che fra i vari fattori causali, anche quelli infettivi possano entrare in giuoco.

Per queste considerazioni crediamo dunque di maggior interesse, fra le numerose questioni che la vastità del tema racchiude, tralasciando quelle che si riferiscono ai neoplasmi infettivi in stretto senso, cioè ai granulomi, perchè già ampiamente studiati e conosciuti, limitare la nostra trattazione agli altri tumori. Cioè vogliamo porre innanzi il quesito fondamentale se di tali neoplasmi possa affermarsi un'origine infettiva, se, cioè, allo stato attuale delle nostre cognizioni su questi processi neoformativi, ed in base al loro studio biologico e ai dati della parassitologia, sia possibile ammettere per essi, o almeno per alcuni, una causa organizzata vivente.

Passeremo quindi in rassegna i vari argomenti coi quali si è sostenuta l'origine infettiva dei tumori, esaminando partitamente quelli di carattere clinico, istologico, epidemiologico e batteriologico e accenneremo anche ai tumori infettivi delle piante, in rapporto a quelli degli animali, e ai dati che dallo studio sperimentale dei neo-

plasmi degli animali possono trarsi, sempre in riguardo alla loro eziologia infettiva. Infine ricorderemo i più importanti fra i parassiti, che furono descritti come agenti eziologici, e le ricerche di riproduzione sperimentale di tumori con essi eseguite; sottoponendo ad un'analisi critica gli argomenti in base ai quali ne fu affermata la specificità.

Vedremo in ultimo a quali considerazioni e conclusioni generali questo complesso di dati ci permetterà di arrivare, per passare poi alla parte sperimentale della trattazione. In questa, data la impossibilità di ripetere e controllare le molteplici ricerche dei varî osservatori, abbiamo creduto opportuno di sottoporre allo studio sperimentale la ipotesi della origine blastomicetica dei tumori, sia perchè è una di quelle che ha un maggior numero di sostenitori, sia perchè, anche recentemente da noi, essa ha suscitato le più vivaci discussioni.

Gli argomenti a sostegno dell'origine infettiva dei neoplasmi.

1. Argomenti clinici.

Insieme con i numerosi patologi che hanno sostenuto l'esistenza di parassiti specifici del cancro o del sarcoma, e che, oltre a descriverli, li hanno talvolta isolati ed inoculati negli animali da esperimento, ve ne sono altri i quali, pur non riconoscendo dimostrato che vi sia un parassita specifico, ammettono per i neoplasmi una origine infettiva in base a considerazioni di ordine generale. Per non parlare delle antiche teorie, che consideravano il cancro stesso come un organismo parassitario estraneo a quello dell'individuo ammalato, opinione che, sotto varia forma, fu anche sostenuta, sebbene con poca fortuna, da autori più recenti; ricorderemo come, secondo alcuni clinici (*v. Leyden*), la febbre (che esiste in alcuni casi), la cachessia e le alterazioni del sangue, deporrebbero in favore della natura infettiva del cancro; ed anche le metastasi dei tumori maligni corrisponderebbero a quelle che si producono nelle infezioni. *Czerny* ritiene che lo svilupparsi dei neoplasmi in certe sedi di predilezione, dove specialmente agiscono le cause esterne, deponga in favore della loro origine parassitaria. Anche *Roger*, senza precisarne la natura, crede che esista un parassita del cancro

e che sia molto diffuso; l'organismo sarebbe dotato di una certa immunità verso di esso e forse spesso il cancro si sviluppa e poi guarisce spontaneamente; come accade talvolta per i cancri dei topi. I tumori cancerosi rappresentano, secondo *Roger*, delle vere lesioni parassitarie, evolventi come le lesioni microbiche, suscitando manifestazioni e reazioni analoghe; difatti i tumori contengono delle tossine analoghe a quelle microbiche.

2. Il contagio e le epidemie.

Il *contagio* del cancro è stato più volte affermato anche dagli antichi medici e, come curiosità storica, si può rammentare che nel XVII secolo *Zacutus Lusitanus* raccontò che tre ragazzi furono presi da cancro del seno per aver dormito colla madre malata, e nel XVIII secolo il medico *Turner* scrisse che due persone morirono per aver assaggiato il liquido colante da un cancro della mammella. *V. Leyden* osservò un giovine che, avendo per errore bevuto l'acqua di lavaggio dello stomaco di un canceroso, morì due anni dopo di un cancro allo stomaco; un caso analogo è riferito anche da *Naunyn; Peyrilhe* narra di un uomo che, avendo succhiato la mammella cancerosa della moglie, per alleviarne le sofferenze, poco dopo morì di cancro alle gengive. Più di frequente vengono portati a sostegno del contagio i casi di trasmissione sessuale del cancro dalla donna all'uomo; *Gueillot* ne raccoglie 23 casi nella letteratura e *Behla* 30, pochi invero se si considera la enorme frequenza delle affezioni cancerose degli organi genitali nel sesso femminile; un'inchiesta del *Bossi*, relativa a tale trasmissione, sta contro alla opinione che essa si verifichi in modo apprezzabile. Qualche altro esempio è pure ricordato di contagio accidentale, così quello di *Guermonprez*, di un medico che si sarebbe contagiato grattandosi una pustola di acne, mentre curava donne cancerose.

Tutti questi casi, ai quali si deve dare un'importanza relativa, sono d'altra parte suscettibili di altre interpretazioni, come vedremo nell'esporre la critica della teoria parassitaria in generale.

Anche le *epidemie circoscritte* di affezioni neoplastiche maligne, tanto nell'uomo che negli animali, sono state invocate a dimostrazione della loro natura infettiva, e sono riferite nella letteratura

molte osservazioni di tali manifestazioni epidemiche limitate a case o villaggi.

Fiessinger, per es., descrive un'epidemia cancerosa in tre abitazioni nelle quali si verificarono quattro casi di malattia in quattro anni; *Gueillot* crede pure all'esistenza di case del cancro, i cui abitanti, senza alcun legame di parentela, sono successivamente o contemporaneamente colpiti da tumori maligni, e ritiene che i cosidetti cancri a due siano più frequenti di quello che si crede; sopra un centinaio di osservazioni di questo genere, ottanta volte si trattava di cancri fra coniugi, otto volte di medici ammalatisi curando dei cancerosi; *Fabre*, *Foucault*, *Shattock e Ballance*, *Arnaudet* e altri hanno pure descritto casi analoghi di focolai epidemici.

Se si paragonano le statistiche di mortalità per tumori maligni di vari luoghi, ritenuti come particolarmente colpiti da questa malattia, con quelle della mortalità media di una intera nazione, si ottiene la seguente tabella (*Sticker*):

Sopra 100 casi di morte in Germania:	3,4	casi di morte per tumori maligni
» » » » Luckau (*Behla*):	16,6	» » »
» » » » Rohlsdorf:	16	» » »
» » » » Corneilles:	15	» » »
» » » » Paartsen:	14,7	» » »
» » » » B. (*Sticker*):	13	» » »

Ma altri osservatori, pure in base a dati statistici, non riconoscono questa pretesa frequenza dei tumori maligni in date località (*Brunon, Dollinger*) o la spiegano diversamente che col contagio (eredità, ecc.).

Assai più spesso che nell'uomo, e forse con maggior esattezza di osservazione, si sono constatate delle epidemie di affezioni neoplastiche fra gli animali, in alcuni casi anche in forma particolarmente chiara ed evidente. *Morau* avrebbe provocato un'epidemia di cancro nei topi, trasportando delle cimici da una gabbia di topi cancerosi sopra altri animali sani. Altre epidemie circoscritte descrissero *Eberth* e *Spude* ed *Hanau*. *Borrel* trovò in un allevamento di topi, nel corso di un mese, tre cancri mammari, e potè scoprire che nella stessa gabbia in due anni, sopra 200 animali, si erano verificati circa 20 casi di tumori; in un'altra gabbia osservò, in un anno, 5-6 casi di cancroide della regione mandibolare; infine in terzo allevamento constatò, in sei anni, 40 tumori; esauritosi l'allevamento, e riempita la gabbia con altri 40 topi, fra

questi tre furono colpiti da cancro mammario. Anche *Haaland* vide ammalarsi otto animali in una gabbia nella quale aveva posto un topo canceroso e trovò in un allevamento di Parigi 15 casi di cancro. *Loeb* ha segnalato tre casi di sarcoma della tiroide fra i ratti, verificatisi successivamente in una gabbia, nel periodo di due anni. *Michaelis* riferì pure di diversi casi di cancro, insorti in breve tempo, uno dopo l'altro, in un allevamento di topi. Interessante è l'osservazione di *Cloves* e *Gaylord*, che nelle gabbie, nelle quali tre anni prima *Loeb* aveva tenuto i suoi ratti con sarcoma, nel periodo di un anno, trovarono tre ratti con fibrosarcoma, di cui uno della tiroide; ed è noto come tale localizzazione sia rara negli animali. Gli stessi autori in una gabbia di topi osservarono, in 10 anni, 60 casi spontanei di adenocarcinomi della mammella. *Lewin*, di recente, ha veduto nello spazio di sei settimane, tre sarcomi dei ratti nello stesso allevamento. Una epidemia caratteristica di cancro nei topi fu resa nota dal *Thorel*, importante sopratutto per la brevità del tempo nel quale si successero i diversi casi: dopo presentatosi il primo tumore fra 60 topi sani, quasi ogni mese vi furono nuovi casi, che raggiunsero il numero di 14; fra i quali 12 in topi che si erano mostrati refrattari alle inoculazioni sperimentali; i tumori spontanei si svilupparono tutti in sede differente da quella della precedente inoculazione.

Anche in altri animali furono descritte simili forme epidemiche, e, per non parlare dei tumori della tiroide insorgenti epidemicamente nei pesci (*Salmonidi*) ed osservati da *Pick* e *Plehn* e da *Jaboulay*, ricorderemo quelle dei bovini. *Cooper* vide in molti bovi della stessa regione il carcinoma delle ghiandole salivari e della lingua; *Loeb* e *Iobson* riferirono di una fattoria americana nella quale era endemico fra i bovini il carcinoma dell'angolo interno dell'occhio, nel periodo di 10 anni essendosene verificati 1-2 casi per anno, sopra 2000 animali, in una percentuale 50 volte maggiore della media; è notevole poi il fatto che gli allevamenti vicini erano completamente immuni da questa forma morbosa.

3. I tumori delle piante.

Nella patologia vegetale si presentano delle neoformazioni di tessuti, spesso indicate come cancri, e dovute all'azione di paras-

siti, che si sono volute porre in relazione coi tumori degli animali, sia ammettendo, per analogia, che anche questi debbano avere la stessa natura, sia perfino ritenendo che il medesimo agente patogeno per le piante, possa esser tale anche per gli animali e l'uomo. Queste analogie però non vanno molto oltre ad una somiglianza di nome o tutto al più di aspetto morfologico; perchè i così detti cancri dei vegetali sono generalmente costituiti da tessuti ipertrofici, non atipici, formati di cellule sprovviste di caratteri di malignità, ed hanno per lo più una azione puramente locale. Ricorderemo, fra queste neoformazioni, il *cancro* dei cavoli e i tumori del Tarassaco officinale, dati dal *Synchytrium tarasaci*, un parassita che penetrando nelle cellule epidermoidali della foglia, ne produce il semplice ingrossamento, senza stimolarle alla moltiplicazione. *Williams* ha paragonato certi tumori della corteccia e del legno degli alberi ai fibromi ed alle esostosi della patologia umana; *Aderholt* e *Goethe* descrissero un *cancro* del pero e del melo dovuto ad un fungo, la *Nectria ditissima*. Tali tumori, come anche il *cancro* degli abeti, pure prodotto da parassiti, non hanno istologicamente nessuna somiglianza coi tumori umani; sopra alcuni dei loro agenti specifici torneremo a parlare, a proposito dei tentativi di riproduzione sperimentale dei neoplasmi coi diversi microrganismi patogeni.

4. Lo studio sperimentale dei tumori in rapporto alla loro eziologia infettiva.

La dimostrazione sperimentale della trasmissibilità dei tumori spontanei da animale ad animale parve a tutta prima venire in appoggio alla opinione che essi avessero una causa vivente organizzata, perchè si suppose che se un tumore, tolto da un animale ed innestato ad un altro, vi si riproduceva, ciò dipendesse dalla presenza di un germe specifico, trasportato colle particelle innestate. Ben presto però il fenomeno venne considerato da un altro punto di vista e fu osservato:

a) che l'innesto attecchiva solo a condizione che si facesse con elementi cellulari integri;

b) che il nuovo tumore prendeva origine unicamente dalla moltiplicazione delle cellule innestate, senza alcuna partecipazione del tessuto ospite, il quale poteva fornire solo lo stroma connetti-

vale di sostegno e non le cellule proprie del neoplasma. L'innesto è dunque un semplice trapianto di cellule viventi in un organismo diverso, è una vera metastasi artificiale da un animale all'altro, e per spiegarne la produzione non occorre invocare l'intervento di un parassita, più di quello che occorra per spiegare il fenomeno della metastasi in uno stesso organismo. Fu allora affermato (*Hauser, Orth*) che il trapianto potrebbe servire a dimostrare il trasporto di un agente specifico, quando riescisse, per suo mezzo, spingere il tessuto ospite a proliferazione maligna; bisogna cioè produrre dei nuovi tumori, tumori primari in senso istologico, differenti da quello innestato, perchè derivanti dallo sviluppo non delle cellule di questo, ma di quelle dell'animale ospite. Questo fenomeno, nello studio sperimentale dei tumori, fu realmente osservato, ed è noto che *Ehrlich-Apolant*, e poi molti altri, videro, in seguito al ripetuto trapianto di un tumore epiteliale, svilupparsi un tumore connettivale, il quale, come dimostrano accurate ricerche istologiche, prendeva origine dal tessuto dell'animale ospite. Però, come vedremo, il fatto è suscettibile di diverse spiegazioni e non è stato quindi ritenuto una prova irrefutabile della trasmissione di un agente specifico. Neppure può darsi maggior valore ai rari casi positivi ottenuti coll'innesto di tumori dell'uomo agli animali, e da animali ad altri di specie diversa; secondo molti sperimentatori tali innesti, data la impossibilità di ottenere un attecchimento di tessuti normali fra animali di differente specie, non si possono spiegare che col trasporto di un germe organizzato, tanto più che in molti casi si ebbe lo sviluppo di tumori istologicamente diversi da quello trapiantato. Vedremo in seguito che anche le neoformazioni così provocate sono suscettibili di altre interpretazioni e che non depongono esclusivamente a favore di una genesi parassitaria.

5. Argomenti istologici a sostegno della teoria parassitaria.

Sostengono i fautori della teoria infettiva, che vi sono forme neoplastiche istologicamente identiche ai tumori veri per le quali l'origine infettiva, o almeno tossi-infettiva, è generalmente ammessa; si citano a questo proposito i linfosarcomi del cane dello *Sticker*, che i più ritengono di natura infettiva (*Veratti* ed altri) e che sono trasmissibili per contagio, ed inoltre i numerosi tipi di linfomi ma-

ligni, i linfosarcomi aleucemici, le linfomatosi, le pseudoleucemie; forme tutte nelle quali si può avere il quadro istologico dei tumori maligni, che spesso hanno l'andamento clinico di una malattia da infezione, e che sono generalmente interpretate come di origine infettiva o tossica.

Gli stessi granulomi tubercolari e sifilitici talvolta non si differenziano anatomicamente dai linfosarcomi. Se, con *Lubarsch*, si ammettono come neoformazioni autonome caratteristiche (cioè come veri tumori) quelle proliferazioni di tessuti, che sorgono senza causa dimostrabile e che, somigliando per la struttura più o meno al tessuto matrice, sono atipiche per la forma, o almeno, nella loro costruzione anatomica, non sembrano adattare la loro funzione al resto dell'organismo; non c'è motivo alcuno per escludere i linfosarcomi dai veri neoplasmi; d'altra parte non si possono stabilire nette differenze fra neoformazioni autonome e granulomi infettivi. Si deve dunque riconoscere l'esistenza di granulomi infettivi dovuti ad agenti specifici noti, e di altri tumori, prodotti da stimoli probabilmente tossi-infettivi (tumori leucemici e pseudo-leucemici); fra le due specie manca un limite netto; vi sono forme di passaggio e da entrambe possono derivare linfosarcomi, che sono anatomicamente tumori veri e clinicamente si comportano come neoformazioni tossico-infettive. Forse si tratta di manifestazioni istologiche diverse della stessa malattia e della stessa causa (*Pappenheim*). In ogni modo non si può negare l'esistenza di processi che hanno carattere neoplastico e di malignità, prodotti da cause tossi-infettive.

Anche il *Banti* considera le linfoadenie e le mieloadenie come processi di natura infettiva, costituenti il gruppo delle sarcomatosi linfoadeniche e mieloadeniche sistematiche, e formanti una classe intermedia tra i granulomi ed i veri neoplasmi; ed ammette inoltre che la polilinfomatosi fibroepitelioide, che secondo la maggior parte degli autori, riconosce un'origine infettiva o tossica, pure appartenendo probabilmente al gruppo dei granulomi, possa in alcuni casi, per la estensione del processo alle pareti vasali, la penetrazione del tessuto patologico nel lume vasale e la formazione di metastasi, assumere la natura di un processo neoplastico. Recentemente *Sticker* e *Löwenstein* (1910) hanno affermato che i tumori dei genitali del cane di *Sticker* appartengono indubbiamente alle linfosar-

comatosi, e che anche dalle loro ricerche sperimentali appare probabile che la pseudoleucemia di *Sternberg* sia di origine tubercolare e sia data dal bacillo di tipo bovino. *Frankel* e *Much* (1910), per mezzo dell'antiformina, hanno trovato delle specie batteriche antiformin-resistenti in casi di morbo di *Hodgkin* e di leucemia linfatica ed attribuiscono ad esse importanza eziologica.

Non solo fra le neoformazioni di origine linfatica, ma anche fra quelle derivate da altri tossuti, si sono messi in evidenza dei punti di contatto fra neoplasmi veri e tumori infettivi. Così alcune forme cutanee, come la micosi fungoide, sono considerate da alcuni (*Kobner*, *Virchow*, *Ziegler*) come granulomi, da altri (*Kaposi*, *Port* e *Frank*) come sarcomatosi; mentre *Naether, Duhring* le ritengono come forme intermedie fra questi due tipi. Anche fra le affezioni epiteliali vi sono forme di natura infettiva, che alcuni autori avvicinano ai processi neoplastici, basti ricordare le cosidette *epiteliosi* di *Borrel* (mollusco contagioso, vaiuolo dei piccioni, ecc.), che avrebbero a causa microrganismi analoghi a quelli supposti del cancro.

Non vi è dubbio quindi che esistano grandi somiglianze istologiche, e talvolta identità, fra certe forme di tumori e alcune neoformazioni d'origine infettiva e possiamo concludere con *Lubarsch*, che quando le nostre conoscenze si allargheranno e conosceremo gli agenti delle neoformazioni, si accrescerà il territorio di quelle infettive e diminuirà quello delle autonome.

Rapporti dei tumori con altre malattie infettive e parassitarie.

Prima di iniziare lo studio dei vari parassiti, che sono ritenuti gli agenti patogeni dei tumori, la cui descrizione costituisce, come ben si comprende, l'argomento essenziale per la dimostrazione della esistenza di neoplasmi di origine infettiva; conviene ancora accennare alle relazioni fra i neoplasmi stessi ed alcune infezioni ben note, poichè vi sono patologi i quali, senza sostenere l'esistenza di un parassita specifico per i primi, attribuiscono agli agenti di queste ultime un'azione coadiuvante nello sviluppo dei tumori; come si ammette possano esplicarla le flogosi croniche od altri stimoli fisici o chimici di lunga durata. Tre principalmente sono le malattie

infettive croniche sul terreno delle quali più di frequente si osserva l'insorgere di neoplasie maligne, la tubercolosi, la sifilide e la bilharziosi.

1. Tubercolosi e tumori maligni.

Il *Rokitansky* negò la possibilità che cancro e tubercolosi si sviluppassero insieme, il *Ribbert* invece vide nella tubercolosi un momento causale del cancro, nel senso che l'infezione bacillare favorisse lo sviluppo sottoepiteliale del connettivo, al quale egli attribuisce tanta importanza nella genesi delle neoplasie epiteliali. Il *Lubarsch*, pur negando una tale dipendenza causale, ammise che l'indebolimento organico, dato dalla speciale infezione, rendesse più facile lo sviluppo del cancro, e che inversamente questo potesse ridestare una tubercolosi latente. Non vi è dubbio che certe alterazioni tubercolari costituiscano una sede di predilezione per lo sviluppo del carcinoma, basti ricordare con quanta frequenza questo si manifesta sulla cute affetta da lupus. Rammentiamo anche ciò che dicemmo a proposito dei granulomi tubercolari e della loro somiglianza istologica coi sarcomi, e segnatamente coi linfosarcomi; che, secondo alcuni, sarebbero addirittura da togliere dal gruppo dei tumori autonomi per riunirli alle forme infettive.

Jensen fra molti ratti, inoculati con un bacillo acido-resistente, isolato da un caso di enterite bovina pseudotubercolare, trovò in due, sopravvissuti parecchi mesi all'infezione, dei noduli colla struttura di un sarcoma fusocellulare, in un animale localizzati nel peritoneo, nel fegato, e nei polmoni, nel secondo limitati a questi ultimi organi; tali neoformazioni poterono successivamente innestarsi ad altri ratti. Ulteriori inoculazioni, fatte con vari germi pseudotubercolari, dettero esito negativo.

Weigert in molti casi di pseudoleucemia trovò dei bacilli del tipo del bacillo tubercolare ed il *Richer* non esita ad affermare che appunto i bacilli tubercolari siano la causa del linfosarcoma.

2. Sifilide e tumori maligni.

Per la sifilide possiamo dire lo stesso che per la tubercolosi; anche su processi sifilitici possono impiantarsi carcinomi e certi prodotti sifilitici rivestono pure i caratteri istologici dei sarcomi,

tanto che la diagnosi differenziale microscopicamente non sempre è possibile.

3. Bilharzia e tumori maligni.

La cistite cronica provocata dalla presenza della uova di *Bilharzia haematobium* è spesso seguita da sviluppo di tumori. *Goebel* pone il fenomeno in analogia coll'insorgenza di cancri che si osserva per effetto di altre specie di irritazione cronica (cancro degli spazzacamini, dei lavoranti in paraffina, anilina, ecc.); nella bilharziosi, accanto a granulomi ed a tumori benigni (papillomi) della vescica, si hanno, circa nel 50 % dei casi, dei tumori maligni (carcinomi, cancroidi), dovuti alla metaplasia dell'epitelio della mucosa, determinata dalla flogosi cronica. *Albarran* e *Bernård* considerano invece il parassita come la causa diretta del tumore; in tal caso l'azione della bilharzia sarebbe da riavvicinare a quella di altri vermi o di artropodi parassiti (acari), ai quali, come vedremo più tardi, il *Borrel* attribuisce un'importanza eziologica nella genesi di certi neoplasmi dell'uomo e degli animali.

La dimostrazione di parassiti specifici nei neoplasmi.

Il più forte argomento che i fautori della dottrina parassitaria dei tumori hanno portato in campo, fu, in ogni tempo, la presenza di agenti specifici in seno a questi tessuti patologici; è infinito addirittura il numero delle ricerche e dei lavori che si sono accumulati su questo soggetto, sia da parte di chi voleva portare una dimostrazione incontestabile dell'esistenza dei parassiti, sia da parte degli avversari, che, con altrettanto zelo e accanimento, confutavano punto per punto ogni affermazione tendente a sostenere l'ipotesi tanto discussa. Secondo una felice espressione del *Barbacci* nell'ultimo decennio del secolo scorso su questo argomento si è scritto tanto che « si è venuta formando tale una selva selvaggia di fatti, ipotesi e teorie, che diventa quasi impossibile orientarvisi per entro ». E difatti sarebbe vana impresa voler ricordare tutte le osservazioni in proposito, tanto più che accanto a quelle non prive di valore scientifico, ve ne sono molte oramai che hanno un interesse relativo, sia per la loro poca importanza reale, sia per rimontare

ad un'epoca in cui mezzi di tecnica ancora imperfetti, non offrivano garanzia di fornire resultati sicuramente attendibili.

Noi, ricordando i principali lavori, tenteremo di dare un idea generale di questo vasto campo di indagini, facendo menzione dei più importanti agenti parassitari descritti quali causa dei tumori e sopratutto fermandoci su quelli che furono sottoposti al controllo sperimentale della inoculazione negli animali. Faremo un'analisi critica dei resultati ottenuti, mirando sempre allo scopo di vedere se, in base ad essi, possa ritenersi con sicurezza dimostrata l'esistenza di veri tumori a causa infettiva.

* * *

Seguendo lo sviluppo storico delle altre discipline biologiche, anche l'ipotesi dell'origine parassitaria dei tumori, ha avuto, nella sua evoluzione, due periodi principali, che differiscono fra loro per i metodi adoperati nello studio di questo argomento. Nel primo periodo si cercò di dare la prova dell'esistenza dei supposti agenti patogeni per mezzo dell'esame istologico dei neoplasmi; sono innumerevoli gli osservatori che affermarono di aver veduto e che descrissero delle formazioni particolari in tali tessuti patologici, e si sforzarono di dimostrarne la natura parassitaria. Successivamente, quando la batteriologia quasi ogni giorno scopriva la causa di qualche forma morbosa in un microrganismo vivente, anche la patologia dei tumori volle valersi dei metodi della nuova scienza, ed, oltre alla dimostrazione morfologica dei germi, spesso dubbia ed incerta, si tentò il loro isolamento in cultura pura e la inoculazione negli animali; sperando per questa via di giungere più facilmente alla risoluzione dell'oscuro problema. Parallelamente all'evolversi della parassitologia, oltre ai comuni schizomiceti, quali agenti patogeni dei tumori maligni, si descrissero varie forme di protozoi, da che si riconobbe che anche a questi microrganismi compete non poca importanza nella eziologia delle malattie; infine da molti si volle pure trovare l'agente specifico dei neoplasmi tra i fermenti (blastomiceti) e l'ipotesi che essi fossero dovuti a questa classe di esseri organizzati ebbe sostenitori, se non numerosi, certamente convinti ed accaniti e destò le più grandi discussioni.

Per seguire un certo ordine nell'esposizione dei fatti, prima parleremo dei microparassiti dei tumori appartenenti ai microrganismi vegetali (bacilli, cocchi, spirilli [spirocheti], blastomiceti, altri funghi inferiori), poi diremo di quelli animali (protozoi), ed infine dei macroparassiti, cioè dei vermi e degli artropodi, ai quali pure, secondo l'opinione di alcuni, si dovrebbe attribuire importanza nell'eziologia dei neoplasmi. Dei protozoi una gran parte vennero semplicemente descritti come reperto istologico; gli altri microrganismi furono per lo più sottoposti al controllo sperimentale e di queste esperienze e dei loro resultati faremo cenno nel corso della esposizione.

1. Microrganismi vegetali.

A) *Bacilli.* — Lo *Scheuerlen* (1882), coltivando sopra liquido pleurico coagulato il succo di carcinomi, ottenne lo sviluppo di un bacillo sottile, sporigeno, che egli ritenne come agente specifico dei tumori; questo microrganismo, inoculato nel tessuto mammario di alcune cagne, in due di esse produsse una tumefazione, che, esaminata dopo circa un mese, presentava la struttura di un tumore infiammatorio cronico; ciononostante lo *Scheuerlen*, dal fatto che il suo bacillo era stato isolato da tutti i tumori, e che egli aveva ritrovato esso o le sue spore nelle sezioni istologiche, concluse per la sua specificità. *Domingo-Freire* confermò il reperto di questo bacillo, rivendicando anzi a sè la priorità della scoperta; anche *Scill* e *Lampiasi-Rubino* affermarono di aver trovato lo stesso microrganismo in carcinomi e sarcomi, ed il *Franke* perfino nel sangue degli ammalati. Successivamente (1888) *Senger* e *Baumgarten* assimilarono il preteso agente specifico di *Scheuerlen* al bacillo della patata; *Rosenthal* lo identificò col *Leptotrix* o *Bacillus epidermitis* di *Bizzozero* e *Bordoni-Uffreduzzi* e dimostrò che si trova solo in rapporto colla pelle; anche *A. Pfeiffer*, *Ballance* e *Shattock*, *Brandt*, riconobbero che si trattava di una saprofita banale.

Nel 1895 *Delbet* isolò un *bacillo del linfoadenoma* che nel cane riprodurrebbe dei tumori gangliari multipli; questo reperto non venne però confermato da alcuno.

Koubasoff, da un cancro dello stomaco, isolò uno speciale ba-

cillo, con cui produsse nella cavia noduli nel peritoneo e nel pericardio; ma non fu accertato che si trattasse di formazioni neoplastiche.

Anche altri Autori, fra cui il *Sicciardi* (1894) osservarono nei tumori, o nel sangue dei malati, dei microrganismi analoghi a quelli di *Scheuerlen*, senza attribuire però loro alcuna importanza patogenetica e considerandoli come semplici saprofiti. È noto che tali germi si trovano con grande frequenza nelle forme neoplastiche ulcerate, ciò che depone per la loro penetrazione accidentale dall'esterno nei tessuti patologici.

B) *Cocchi.* — Anche fra i cocchi i supposti parassiti dei tumori maligni hanno avuto i loro rappresentanti; rammenteremo solo che *Nepveu* (1872) descrisse tali microrganismi in un epitelioma e *Moty* (1894) ne trovò costantemente nel sangue di individui ammalati di sarcoma; anche *Rappin* (1886) isolò un diplococco dal succo di 16 neoplasmi di varia natura e con esso riprodusse nel coniglio dei noduli nel fegato e morte in cachessia. I resultati di questi osservatori sono privi di qualunque importanza, e ci basti averli incidentalmente ricordati.

Ha avuto invece una certa fama nel mondo scientifico ed in quello profano, ed è anche validamente sostenuto come agente dei tumori dal suo scopritore, il *Micrococcus neoformans* del *Doyen*. Questo autore fino dal 1886 sostenne che col semplice esame a fresco del succo canceroso è possibile scoprire nelle cellule e nel liquido ambiente dei cocchi riuniti in ammassi o disposti a diplococco, a triade, od a breve catenella, dotati di movimenti propri, colorabili con speciali metodi, e che si trovano tanto nei tumori benigni che in quelli maligni, e nelle loro metastasi linfatiche. Successivamente (1903), il *Doyen* riescì a coltivare questo microrganismo nel brodo di mammella di vacca naturalmente acido; in tale terreno esso si presenta come diplococchi a volume ineguale, o come triadi, tetradi, o brevi catenelle spesso biforcate ad *Y*, in modo del tutto caratteristico. Il germe si sviluppa anche sui terreni comuni e fluidifica lentamente la gelatina. La cultura riesce più facilmente seminando i frammenti tolti dalla zona d'invasione del tumore o le piccole metastasi. I cancri spontanei della mammella dei topi bianchi, l'epitelioma dei reni del ratto e i tumori a decorso

rapido dei cani, danno culture identiche a quelle dei tumori dell'uomo. Col metodo dell'impregnazione argentica si possono dimostrare i microrganismi nelle sezioni, dove occupano specialmente i nuclei delle cellule. Secondo il *Doyen* il *micrococcus neoformans* presenta diversi stadi di evoluzione: 1° allo stadio di parassita della cellula cancerosa si decolora, per l'azione dell'iodio, col metodo del *Gram;* eccezionalmente è possibile colorare col metodo di *Gram* uno o pochi elementi isolati nei tumori a sviluppo molto rapido; 2° trasportato nel mezzo nutritivo di elezione (brodo di mammella di vacca, non neutralizzato) si sviluppa rapidamente e diventa colorabile col metodo di *Gram.*

La presenza del micrococco di *Doyen* nei tumori fu confermata da *Metchnikoff* e da *Levaditi* e *Wainberg,* anche in forme non ulcerate e inoltre da *Isaza*, *Jacobs* e da *Leitch*, che lo trovò anche in tumori del topo e del cane. Secondo il suo scopritore il *micrococcus neoformans*, inoculato negli animali, avrebbe dato risultati positivi nei topi bianchi, nei ratti bianchi, nel cane e nella bertuccia. Nei topi l'inoculazione intraperitoneale è seguìta dalla produzione di lesioni epiteliali dell'ilo del fegato e delle vicinanze del pancreas; lesioni sulla cui natura l'A. non dà altre indicazioni più esatte; e da una infiammazione particolare del polmone con ipervegetazione degli epiteli dei bronchi. Nel ratto si osservano lesioni infiammatorie del cieco, con alterazioni delle ghiandole tubulari, molto analoghe a ciò che si osserva all'inizio del cancro dell'intestino nell'uomo; inoltre in questo animale il *Doyen* ottenne un cancro papillare della vescica, un fibromioma cistico della tromba di *Falloppio* e un certo numero di casi di epiteliomi a piccole cellule e di epiteliomi cilindrici del polmone, accompagnati da neoformazioni mixo-cartilaginose; in un caso si ebbero nel polmone le lesioni dell'epitelioma pavimentoso stratificato. In una cagna e in un ratto l'A. osservò tre lipomi a decorso rapido e in molti topi bianchi, nel peritoneo, dei noduli di sarcoma melanotico, ottenuto iniettando insieme un emulsione di tumore melanotico addizionata di una coltura di micrococcus. Nei ratti, in cui si ottiene la lesione polmonare, spesso si trovano dei gangli mediastinici ingorgati, che mostrano proliferazioni cellulari, le quali paiono essere di natura metastatica. Non riesce la produzione di cancri mammari nel topo.

Questi, descritti colle parole stesse del *Doyen*, sono i resultati delle inoculazioni sperimentali; nè, giudicando obbiettivamente, si può affermare che dimostrino che con esse si siano ottenuti dei veri tumori; è noto, del resto, che una Commissione nominata nel Congresso francese di Chirurgia del 1904, per giudicare dei resultati ottenuti dal *Doyen*, non potè persuadersi che le neoformazioni da lui ottenute fossero veri tumori; neppure *Letulle* e *Brault* confermarono la diagnosi istologica che di essi faceva l'autore; sopratutto la mancanza di processi metastatici sicuramente dimostrati, fa ritenere che si tratti piuttosto di produzioni flogistiche croniche. *Faine* e *Morgan*, hanno inoculato il micrococco a 200 animali senza ottenere un solo tumore. Non si deve dimenticare che lo stesso *Metchnikoff*, pur non negando il reperto del *micrococcus neoformans* nei tumori, non si pronunzia sul suo potere patogeno.

Neppure i tentativi del *Doyen* di dimostrare un'azione agglutinante specifica del siero dei malati sul suo microrganismo; e tanto meno quelli di ottenere degli effetti curativi sui tumori per mezzo di preparati vaccinici di questo germe, hanno trovato generale conferma.

Secondo le osservazioni di *Korwacki* i cocchi del *Doyen* sarebbero agenti di infezione secondaria dei tumori, ma potrebbero però avere un certo influsso sul loro sviluppo e su tutto l'organismo.

C) *Spirocheti.* — Per quanto la posizione occupata dagli spirocheti nella classificazione degli organismi inferiori sia ancora incerta, ed alcuni autori li facciano rientrare nella classe dei protozoi; noi, attenendosi alla tradizione ormai invalsa, ricordiamo di seguito ai bacilli ed ai cocchi, gli spirocheti; il cui reperto nei tumori è, del resto, ritenuto dalla grande maggioranza degli autori, come sprovvisto di qualunque importanza eziologica.

Nel 1905 il *Borrel* descrisse tre tipi di spirocheti in tumori ulcerati e non ulcerati dei topi, senza attribuire loro alcuna importanza eziologica. Successivamente *Gaylord*, in dieci tumori spontanei del topo ed in sedici tumori innestati, trovò degli spirocheti simili alla *spirochaeta microgyrata* descritta da *Löwenthal* in alcuni cancri dell'uomo. Questi microrganismi risiedono a preferenza alla periferia del tumore, nello stroma, e mancano nei fo-

colai necrotici; sono estracellulari e non si trovano in organi normali: *Gaylord* emise l'ipotesi che qualche sostanza prodotta dagli spirocheti, agisse chemiotatticamente sugli epiteli mammari del topo; recentemente però egli stesso negò ogni importanza eziologica a questi germi e constatò che si trovano di frequente nel sangue dei topi normali. *Hoffmann* vide degli spirocheti in cancri ulcerati della pelle e dell' utero. *Calkins* ritiene che gli spirocheti da lui descritti, e che si trovano nelle cellule del cancro dei topi, non ne siano l'agente infettivo, ma che abbiano rapporto colla virulenza del tumore e forse preparino il terreno al suo sviluppo; egli crede all'esistenza di un altro agente parassitario, endocellulare, invisibile cogli attuali mezzi di osservazione. *Tyzzer*, inoculando ai topi tumori contenenti spirocheti, ritrovò in essi i microrganismi, anche senza ottenere lo sviluppo del tumore; non potè dimostrarli nè in neoplasmi umani, nè in altri di animali e li vide invece nei topi senza tumori, specialmente in corrispondenza di focolai flogistici. *Deetjen* trovò numerosi spirocheti in tumori anche da inoculazione e nel sangue dei topi. *Mc. Jntosh* su 34 tumori dell' Istituto imperiale del Cancro di Londra, in nessuno trovò spirocheti e spiega i reperti di altri autori col fatto (dimostrato da *Wenyon* e da altri) che topi apparentemente sani possono contenere spirocheti nel sangue. Anche *Councilman* nega ogni rapporto causale fra questi microrganismi e i tumori dei topi. *Simmonds*, studiando il materiale di oltre 60 autopsie, non vide mai spirocheti nei tumori chiusi non decomposti, ma solo in quelli in rapporto con la cute o le mucose. Ritiene che siano parassiti innocui capaci di penetrare nei vari organi per la via sanguigna. *Nègre* trovò gli spirocheti nel 20 °/₀ dei tumori spontanei dei topi, e crede che abbiano la proprietà di affrettare lo sviluppo del cancro e predisporre ad esso l' animale.

D) *Blastomiceti.* — Il *Russell* nel 1890 descrisse nei tessuti cancerosi delle speciali formazioni, intensamente colorabili colla fucsina carbolica, ed anche col metodo del *Gram*, rappresentate da corpi sferici, con membrana ed alone chiaro, che mostrano talvolta fatti di gemmazione e di sporulazione. Questi corpi l' autore non potè riscontrare in altre neoformazioni di natura non cancerosa e ritenne che fossero elementi parassitari appartenenti ai blastomiceti.

Nel 1894 il *Banti* osservò delle formazioni analoghe in un caso di morbo mammario del *Paget* e, studiandone il processo di moltiplicazione, ne notò la somiglianza con quello dei saccaromiceti; senza pronunziarsi sulla loro importanza patogenetica, egli tendeva anzi ad ammettere che la presenza di tali parassiti fosse dovuta ad invasione secondaria accidentale. Pure nel 1894 il *Busse* pubblicò un caso di sarcoma della tibia di un uomo; all'esame istologico il tumore conteneva numerose cellule giganti e fuori e dentro di esse dei corpi rotondi, refrangenti, a doppio contorno, che avevano tutti i caratteri dei blastomiceti; accanto al tessuto sarcomatoso vi era del tessuto di granulazione.

Le culture fatte dal tumore dettero sviluppo a blastomiceti; gli animali, inoculati con pezzi di tessuto o colle culture, presentavano infiammazioni purulente locali, che venivano a guarigione spontanea, oppure un' infezione generalizzata. Nonostante questi resultati negativi, il *Busse* affermava che non si dovesse escludere che i tumori umani fossero dati da fermenti: dovendosi tener conto, nelle esperienze sugli animali, della loro età, della specie e della recettività diversa, che potrebbero spiegare i resultati negativi. Il malato osservato dal *Busse* venne successivamente a morte in cachessia, presentando altre tumefazioni nelle ossa (costole, ulna), nelle ghiandole linfatiche, nella milza, nei reni e nei polmoni; nuovamente e accuratamente studiato dal *Busse* stesso, questi corresse la sua prima diagnosi di sarcoma e affermò trattarsi di una forma di piemia cronica generalizzata da blastomiceti, con produzione di granulomi. Rimase così privo di ogni importanza uno degli esempi che era più spesso portato a sostegno della eziologia blastomicetica dei neoplasmi, per quanto altri non abbia voluto riconoscere per esatta la seconda diagnosi fatta dal *Busse* medesimo.

Nel 1895 cominciò le sue pubblicazioni sui blastomiceti, in rapporto all'eziologia dei tumori, il *Sanfelice*; ma delle sue ricerche, e dei resultati da lui ottenuti negli ultimi anni, diremo in seguito. Nello stesso anno un autore inglese, il *Braithwaitce* descrisse istologicamente dei blastomiceti in cancri dell' utero, del seno, del labbro, del pene, in un papilloma del condotto uditivo e in un melano-sarcoma, ed il *Kahane* presentò alla Società dei medici

di Vienna le colture di un saccaromicete isolato da un cancro uterino e affermò di aver trovati molte volte simili parassiti in tumori carcinomatosi e sarcomatosi.

Maffucci e *Sirleo* (1895) incontrarono casualmente in una cavia una alterazione polmonare costituita da un tessuto grigiastro, molle, di aspetto mixomatoso, che occupava la parte superiore dell' organo; il succo di esso conteneva numerosi blastomiceti intra ed estra-cellulari (*Saccharomyces niger*). Il polmone, in corrispondenza della lesione, presentava gli alveoli fortemente dilatati, ripieni di cellule epiteliali rigonfie con uno o più nuclei, dentro di esse e fra mezzo numerosi parassiti; mancavano fenomeni flogistìci acuti. Numerose cellule epiteliali e parassiti si trovavano nelle ghiandole linfatiche mediastiniche, e nella milza, nel rene vi erano focolai costituiti di soli parassiti. Innestando del tessuto polmonare nel sottocutaneo delle cavie si ottenne la formazione di ulcere, che guarivano spontaneamente; praticando invece degli innesti per scarificazione cutanea si ebbe iperplasia dello strato malpighiano, con formazione di gettoni epiteliali nel corion; nelle zone circostanti e nelle ghiandole linfatiche vicine esistevano elementi epiteliali e parassiti. Inoculando in trachea gli AA. osservarono neoproduzione di cellule epiteliali negli alveoli; dalla loro descrizione non appare però sicuramente dimostrato che tanto nella cute quanto nel polmone, si trattasse di vere proliferazioni dell' epitelio e non di formazione di cellule epitelioidi di granulazione. Successivamente *Maffucci* e *Sirleo* riconobbero che le alterazioni provocate dai blastomiceti sono piuttosto processi infiammatori neoproduttivi che veri processi neoplastici, e che non si può ancora coscienziosamente affermare che i blastomiceti siano capaci di dare neoplasie cancerose o sarcomatose. *Maffucci* stesso, in 20 casi di tumori epiteliali, non potè ottenere culture di questi parassiti.

Invece il *Binaghi* (1896), sopra 50 epiteliomi da lui studiati, trovò i blastomiceti in 40 casi con la ricerca istologica, e si assicurò, con l'esame della loro resistenza agli acidi e agli alcali, che si trattava veramente di parassiti e non di inclusioni cellulari di altra natura; non potè dimostrarli invece nei tessuti tubercolari, nè in quelli actinomicotici; osservò anche che i parassiti sono più numerosi nei tumori a rapido sviluppo ed ammise senza

altro che essi siano gli agenti specifici dell'epitelioma. Il *Roncali*, che, dopo il *Sanfelice*, rapppresenta in Italia il più convinto difensore della teoria blastomicetica, si occupò dell' argomento in una serie di lavori comparsi fra il 1895 e il 1897 : egli trovò da prima i parassiti negli adenocarcinomi dell'ovaio ed in cinque sarcomi, e ne dette una esatta descrizione morfologica, sostenendo anche, in base a ragioni istologiche, che essi possono dar luogo ad ammassi di elementi degenerati i quali da altri (*D' Urso* e *Maffucci*) furono ritenuti invece come prodotti d' infiltrazione calcarea o di degenerazioni degli epiteli. In seguito il *Roncali* isolò anche un nuovo blastomicete da un epitelioma della lingua e dalle metastasi linfatiche di un sarcoma della mammella e con esso fece esperienze di inoculazione negli animali, ottenendo delle produzioni, che egli ritiene neoformative, ed una speciale forma di degenerazione del parassita, per la quale lo chiamò *blastomyces vitro-simile degenerans*.

Lo stesso parassita isolò anche da un adeno-carcinoma (papilloma infettante) del colon, diffuso secondariamente al grande omento e al mesentere; in questo tumore i germi erano abbondantissimi all' esame istologico e si poterono facilmente coltivare; inoculati nelle cavie, nel peritoneo, producevano dei piccoli noduli biancastri nei vari organi (ghiandole linfatiche, fegato, polmoni, milza, vescica, omento), i quali erano costituiti (secondo l' A.) da un tessuto granulomatoso con caratteri più neoformativi che infiammatori; nelle ghiandole linfatiche si osservava proliferazione degli endoteli e la « organizzazione dei leucociti in elementi epitelioidi », nel polmone vi era una straordinaria proliferazione degli elementi tappezzanti gli alveoli, degli endoteli vasali e del connettivo interstiziale. Queste le alterazioni descritte dal *Roncali*, in forma non troppo chiara, ma che non ci sembra si possano interpretare come neoplastiche. Il fatto di aver trovato in tre tumori diversi lo stesso parassita depone, secondo l'A., in favore del concetto che uno stesso blastomicete, a seconda che irriti il connettivo o l' epitelio, possa produrre il tumore connettivale o l'epitelioma.

Il *Roncali* fece pure esperienze di controllo esponendo all'aria dei pezzi di tessuto, ma non riescì mai a coltivare da essi dei blastomiceti; provò anche a spalmarvi sopra o a iniettarvi

delle culture di blastomiceti o ad immergerli in esse; ma non osservò mai una penetrazione di microrganismi nella profondità dei tessuti e tanto meno dentro le cellule, quale si riscontra invece nei neoplasmi. In base alle proprie ricerche ed ai reperti di altri autori, che pure isolarono i saccaromiceti dai tumori e fra i quali ricorderemo oltre il *Sanfelice,* il *Corselli* e *Frisco* (da un linfoma), il *Pianese* (da due epiteliomi della mammella), il *Rossi-Doria* (da un deciduoma maligno), il *Gotti* e *Brazzola* (da un mixosarcoma delle fosse nasali del cavallo), l' *Aievoli* (che li osservò in vari epiteliomi e in un sarcoma), il *Roncali* ritiene dimostrato che i blastomiceti siano la causa dei tumori maligni e crede anche che molti autori (*Vedeler*, *Jurgens*), i quali descrissero nei tessuti neoplastici degli sporozoi, abbiano in realtà veduto dei blastomiceti.

Un reperto dubbio di blastomiceti in cisto-adenomi del rene ebbe il *Cipollone* (1896); invece il *Curtis*, nello stesso anno, da un tumore di aspetto mixomatoso della coscia, isolò un blastomicete, col quale praticò numerose esperienze di inoculazione negli animali; nel ratto ottenne delle tumefazioni mixomatose simili a quelle del tumore dell' uomo, nel cane delle infiltrazioni purulente; il *Curtis* chiamò questo parassita *Saccharomyces tumefaciens subcutaneus;* dalla descrizione istologica della tumefazione dell'uomo e di quelle ottenute negli animali risulta che non si trattava di un vero neoplasma, ma di una enorme vegetazione di parassiti, i quali costituivano la massa principale del tumore, essendosi sviluppati e moltiplicati nel tessuto sottocutaneo; alla periferia di questo ammasso blastomicetico, al quale si doveva la consistenza e l' aspetto mixomatoso della tumefazione, esisteva una zona di elementi epitelioidi di granulazione.

Nel 1897 *Fumagalli* e *Alfieri* descrissero forme blastomicetiche in un epitelioma; nell'anno seguente il *Concetti*, studiando dei sarcomi dei bambini, non potè dimostrarvi i parassiti, nè coll' esame istologico, nè con quello culturale, ed il *Cona* ottenne culture di blastomiceti da frammenti di sarcomi, solo dopo che questi erano rimasti esposti qualche tempo all'aria. Pure del 1898 è un importante lavoro del *Bonome*, il quale studiò microscopicamente e batteriologicamente 23 casi di tumori maligni, e trovò i blastomiceti in 7 di essi, quasi tutti ulcerati; notevoli fra questi sono:

un caso di carcinosi diffusa da cancro primitivo dell' utero, nel quale tutte le culture fatte dai noduli metastatici dettero resultato positivo; un adeno-carcinoma primitivo del rene, trovato accidentalmente alla necroscopia in individuo morto di polmonite, che dette pure un abbondante reperto di blastomiceti; infine un caso di carcinosi miliarica, in un uomo affetto da cancro recidivo della mammella, nel quale si isolarono i parassiti dai noduli metastatici. Coi tre ceppi così isolati il *Bonome* fece numerose esperienze in diversi animali; i microrganismi si dimostrarono patogeni, non dettero però mai luogo a produzioni di carattere neoformativo, ma solo una limitata reazione connettivale attorno ad alcuni focolai blastomicetici; colla infezione delle mucose in due soli casi si ottenne una leggera iperplasia dell'epitelio e delle papille del derma della mucosa prepuziale. Il *Bonome* inoculò anche sotto la dura madre di un cane un frammento di un sarcoma endoteliale del cervelletto, il quale conteneva blastomiceti. Dopo due mesi l'animale venne a morte e presentava un tumore grigiastro, d'aspetto fibroso, situato nella zona prerolandica, che istologicamente risultò essere un fibroma, e che conteneva numerosi blastomiceti. Dalle sue ricerche il *Bonome* conclude che i blastomiceti non sono da mettersi in rapporto eziologico coi neoplasmi, ma si devono considerare come l'effetto di una penetrazione accidentale nei tumori già sviluppati; alcuni di essi, isolati da queste forme morbose dell'uomo, sono patogeni per gli animali e possono dare neoformazioni connettive di natura infiammatoria o semplici iperplasie, ma non hanno mai riprodotto tumori simili a quelli da cui furono coltivati; è possibile che questi parassiti possano contribuire alla diffusione metastatica dei neoplasmi. Altre esperienze del *Bonome* hanno dimostrato che i blastomiceti isolati da un cancro umano, ed inoculati in altro cancro umano, possono mantenersi vivi per alcuni mesi e provocare degenerazione delle cellule neoplastiche.

Nel 1899 comparvero le pubblicazioni di *Plimmer* e di *Leopold*, entrambi sostenitori della origine blastomicetica dei tumori. Il *Plimmer* sopra 1278 casi di cancro in 1130 trovò parassiti liberi o endocellulari. Solo nei casi a decorso rapido i blastomiceti erano molto abbondanti; di questi l'A. ne trovò nove, sul numero totale, ed in essi quasi ogni cellula conteneva forme parassitarie.

In un caso si ottennero le culture su brodo di cancro glucosato e acidificato; il germe isolato fu dal *Sanfelice* stesso identificato col *Saccharomyces neoformans*. Degli animali inoculati alcuni dettero resultato negativo, altri morirono senza speciali lesioni, altri infine presentarono produzioni endoteliali nel fegato, nel polmone e nel peritoneo; sulla cornea dei conigli si ottennero proliferazioni epiteliali. Il *Plimmer* ritiene che vi siano delle rare forme di cancro contenenti grandi quantità di parassiti, le quali, per la loro rarità ed il rapido decorso, potrebbero non avere la stessa causa degli altri cancri.

Il *Leopold* studiò parecchie centinaia di cancri degli organi genitali femminili, escludendo quelli ulcerati; in molti casi osservò i parassiti a fresco e sopra 20 carcinomi, quattro volte ottenne culture pure di blastomiceti. Inoculando il tessuto carcinomatoso negli animali, sopra quattro esperienze, una volta ottenne un sàrcoma midollare in un ratto, un' altra volta, in un coniglio, un tumore addominale, che rimase stazionario per alcuni mesi, dopo più di 4 anni l'animale morì e si trovarono nel fegato e nei polmoni dei noduli di natura epiteliale. Iniettando nei testicoli di un ratto, culture pure di uno dei blastomiceti da lui isolati, il *Leopold* ottenne nel peritoneo dei noduli di struttura sarcomatosa gigantocellulare, dai quali potè di nuovo coltivare i germi inoculati.

A resultati opposti e decisamente contrari all' ipotesi blastomicetica giunse il *Carini* (1900); egli fece culture su vari mezzi da 15 tumori tolti dal vivente ed ebbe sempre resultati negativi, tranne in un caso di cisto-papilloma ovarico, nel quale però il tumore era rimasto esposto all'aria per 12 ore dopo l'atto operativo; in questo caso ottenne nelle culture, fra molti altri microrganismi e muffe, alcune colonie di blastomiceti, che è persuaso provenissero da inquinamento; l'esame istologico del tumore riuscì negativo per i parassiti. Il *Carini* praticò anche delle inoculazioni negli animali, tanto col blastomicete da lui isolato, quanto con alcuni ceppi del *Sanfelice*, ma non ottenne altro che comuni processi infiammatori ed in qualche caso formazione di tumori costituiti da colonie di parassiti, sviluppati in seno ai tessuti. L'esame istologico di 44 tumori, fatto con metodi diretti a svelare la presenza di blastomiceti (*Sanfelice-Aievoli*), riescì positivo in 18 casi: però for-

mazioni uguali a quelle ritenute, nei tumori, come blastomiceti, si poterono mettere in evidenza anche in altri tessuti (prostate normali, testicoli e ghiandole linfatiche tubercolari, produzioni fungose del ginocchio, tonsille ipertrofiche, congiuntive tracomatose), tolti dal vivente e immediatamente fissati. Da tutte le sue ricerche il *Carini* conclude che da tumori estirpati dal vivente e raccolti con cautele asettiche, non riesce la cultura dei blastomiceti, neppure quando l' esame istologico dimostra in essi la presenza di corpi di *Russell;* le inoculazioni di blastomiceti non danno vere neoplasie; è dubbia la natura blastomicetica dei corpi di *Sanfelice* (corpi a fuxina di *Russell*), tali corpi costituiscono un reperto incostante nei tumori e si trovano non di rado in altri tessuti normali o patologici e tubercolari; i corpi ritenuti come coccidi o sporozoi, nei tumori, per lo più non prendono le colorazioni specifiche dei blastomiceti, quindi non è esatto ritenere (*Roncali*, *Sanfelice*), che molti autori abbiano descritto come protozoi dei blastomiceti.

Nella Clinica chirurgica di Roma, il *Biagi* trovò dei blastomiceti in un mixosarcoma del ginocchio e il *Perez*, in un altro tumore, una sarcina che presentava certe analogie coi blastomiceti e dava negli animali delle infiltrazioni parvicellulari. Ricerche più estese fece l'*Alessandri* (1902), coltivando su opportuni terreni 33 tumori e mettendosi nelle migliori condizioni per escludere possibili inquinamenti; ebbe sempre risultati negativi coll'esame culturale e positivi invece con quello istologico; in due casi isolò un germe polimorfo, che assumeva talvolta l'aspetto di blastomicete, e non dava lesioni apprezzabili negli animali.

Anche *Richardson* ebbe resultati negativi nei suoi tentativi culturali.

Una numerosa serie di ricerche, che stanno tutte contro la teoria blastomicetica, ha fatto il *D'Anna* (1903). Egli è fermamente convinto che i blastomiceti trovati nei tumori provengano dall'aria; esaminando istologicamente e culturalmente frammenti asettici di tumori, non ulcerati e non comunicanti coll'esterno, non trovò mai i parassiti; esponendo invece pezzi dei medesimi tumori all' aria, per 24 ore, occorre spesso di trovarli nelle sezioni, e tenendoli per 24 ore in termostato, si trovano pure nella profondità del tessuto e quasi sempre si possono anche coltivare. Lo stesso avviene se si

adoperano per l'esperienza pezzi di tessuto normale; le piccole ghiandole affette da metastasi cancerigne non contengono mai blastomiceti; questi, nei tumori esposti all'aria, non sono mai intracellulari. Sperimentando con polveri inerti, sparse sopra ulcerazioni cutanee provocate, o anche su tumori spontaneamente ulcerati, il *D'Anna* vide che esse possono penetrare nell'interno dei tessuti sottostanti ed anche dentro le cellule. Infine egli ritiene che i tumori ottenuti dai vari sperimentatori colla inoculazione di blastomiceti siano granulomi, e che questi parassiti non abbiano nessuna relazione eziologica coi neoplasmi; ammette solo che il papilloma infettante dell'ovaio sia un granuloma da blastomiceti; nelle ricerche, fatte con molti metodi di colorazione, sopra 57 tumori maligni, cinque sole volte trovò i parassiti in questione e sempre si trattava di tumori ulcerati; una sola volta li rinvenne nelle metastasi linfatiche di un tumore pure ulcerato; in nessun caso erano endocellulari. Nei 34 casi in cui tentò le culture, queste riescirono negative.

Il *Santori* (1903) isolò dei blastomiceti da due linfosarcomi delle ghiandole meseraiche (all'autopsia) e da un caso di actinomicosi del testicolo di un gallo; non li trovò invece in diversi cancri; questi germi davano negli animali dei noduli a contenuto puriforme e marasma. Un altro ceppo fu isolato da un sarcoma a piccole cellule della cavità addominale di un gallo, con metastasi, e fu identificato col *Saccharomyces infiltrans*, già descritto dall' A. e dal *Casagrandi;* negli animali produceva noduli puriformi ad accrescimento limitato, con tendenza alla guarigione, costituiti da infiltrazione leucocitaria o da ammassi di parassiti, senza nessun carattere neoplastico; in un coniglio provocò una forma di pseudotubercolosi polmonare.

Ricorderemo ancora, prima di venire a parlare delle ricerche del *Sanfelice,* che il *Monsarrat*, nel cancro della mammella, trovò sette volte, sopra 12 casi, un blastomicete, che egli ritiene per un agente specifico e che produrrebbe negli animali dei tumori della mammella, da lui qualificati per epiteliali; ma che non furono riconosciuti tali da una commissione della Società patologica di Londra; il *Roswell Park*, in alcuni tumori, trovò dei corpuscoli d'apparenza adiposa, insolubili in etere, che riproducevano tumori

negli animali, e in un caso di neoplasma del mesenterio dall'essudato peritoneale isolò dei fermenti, che pure riprodussero un tumore analogo. Queste osservazioni sono troppo incomplete e prive di particolari istologici perchè si possa attribuire ad esse qualche valore.

Il *Nobile* (1907), valendosi delle colorazioni di *Ehrlich* e di *Mann*, potè dimostrare i blastomiceti solo nei tessuti fissati in Zenker, non in quelli fissati in sublimato o in Flemming; riconosce col *Bizzozzero*, che queste forme possono trovarsi nella pelle normale e non crede che si debba dar loro un gran significato.

Il *Sanfelice*, il quale da oltre dieci anni si occupa dello studio dei blastomiceti in rapporto all'eziologia dei tumori maligni, allo inizio delle sue ricerche su questi microrganismi, che egli isolava dall'ambiente esterno, osservò che, inoculati negli animali, prendevano nei tessuti l'aspetto dei corpuscoli fuxinofili del *Russell*. In questo stato i parassiti non erano più coltivabili, invece quando conservavano la forma capsulata erano ancora coltivabili. Fra i molti ceppi di blastomiceti, isolati da succhi di frutta o da tumori dell'uomo o degli animali, il *Sanfelice* ne incontrò alcuni spiccatamente patogeni, capaci di dare speciali lesioni negli animali. Egli vide che, inoculati da soli, producevano una forma d'infezione nodulare diffusa, i cui noduli erano costituiti quasi esclusivamente da ammassi di microrganismi, sviluppatisi a guisa di colonie in seno ai tessuti; e potevano anche dare proliferazione limitata di alcuni epiteli, come l'epitelio bronchiale, per inoculazione endotracheale, o quello corneale, per infezione superficiale della cornea. Gli stessi parassiti invece, iniettati insieme coi terreni di cultura in cui si erano sviluppati a lungo, e che presumibilmente erano imbevuti dei prodotti solubili da essi elaborati, si moltiplicavano scarsamente nei tessuti, stimolando intensamente i loro elementi cellulari fino a produrre neoformazioni, che il *Sanfelice* ritenne di natura neoplastica, riconoscendo in esse la capacità di svilupparsi indefinitamente fine alla morte dell' animale e di dare metastasi cellulari.

L'A. dette a questa specie patogena il nome di *Saccharomyces neoformans*.

In un gran numero di esperienze, praticate nei cani, ottenne

da principio pochi risultati positivi, fra i quali egli ricorda, come più dimostrativi per la sua tesi, i seguenti: tre tumori della mammella, diagnosticati come adeno-carcinomi con metastasi nelle ghiandole linfatiche; un tumore del testicolo con noduli metastatici sul pene e sul glande, pure riconosciuto come adeno-carcinoma; un tumore di natura connettivale sviluppatosi nel connettivo sottocutaneo del prepuzio, in un cane inoculato nei testicoli. Nei gatti, per inoculazione endoperitoneale, ottenne formazioni di noduli costituiti di cellule epitelioidi, nella cavità peritoneale, nelle ghiandole linfatiche, nella milza, nei reni e talvolta nei polmoni. Per inoculazione endovenosa, nei cani, ebbe in un caso lo sviluppo di un tumore della milza, che riconobbe per un sarcoma; in altri produzione di noduli epitelioidi nei reni, nel fegato, nel cervello, nella retina, nelle meningi, e nel polmone; neoformazioni tutte che il *Sanfelice* considerò come tumori connettivali. Analoghi reperti dettero le inoculazioni endovenose nei gatti e nelle pecore.

Ai primi resultati, ottenuti nei cani, oltre ad altre obiezioni di indole istologica, che, come vedremo, possono applicarsi anche alle esperienze successive, si fece quella che essi erano troppo pochi in confronto al gran numero di animali inoculati, e quindi si potevano spiegare come reperti fortuiti di tumori spontanei. Per ottenere maggior copia di successi positivi, il *Sanfelice* prese allora a considerare l'azione dei prodotti solubili dei blastomiceti, incoraggiato in ciò dall'esito delle esperienze di inoculazione endotracheale, le quali avevano mostrato che i tessuti reagivano con una notevole proliferazione cellulare allo stimolo portato da tali sostanze.

Infatti in una nuova serie di ricerche, pubblicate nel 1906-7, eseguita con questi criteri, i casi positivi furono in numero assai maggiore; le inoculazioni vennero praticate col *Saccharomyces neoformans* e con altri ceppi isolati da tumori di cani (*Saccharomyces canis* I e II) e si facevano inoculando culture vecchie su patata in tubi chiusi: raschiando la patina culturale ed emulsionandola in acqua sterile, si poteva studiare l'azione dei soli parassiti; facendo invece una poltiglia della patata, da cui la patina è stata raschiata via, ed inoculando questa poltiglia, emulsionata pure in acqua sterile, si aveva il modo di studiare l'azione dei soli pro-

dotti solubili, elaborati *in vitro;* perchè, secondo il *Sanfelice*, i microrganismi non penetrano nell'interno del substrato nutritivo.

Adoperando per fare l'emulsione la cultura intera, si aveva l'azione simultanea dei parassiti e dei loro prodotti. A seconda che le culture erano più o meno vecchie, i blastomiceti erano già morti ed ancora viventi ed anche in questo senso poteva quindi differenziarsi la loro azione sull'organismo animale. Con tale tecnica, che abbiamo creduto opportuno descrivere nei suoi particolari, il *Sanfelice* praticò diverse serie di esperienze. Su 13 cani inoculati si sono avuti i resultati seguenti:

Tre cani, inoculati nel peritoneo coi soli prodotti solubili di blastomiceti, hanno presentato tumori del grande omento, con metastasi linfatiche e viscerali, che il *Sanfelice* diagnosticò come endoteliomi. Di altri 4 cani, inoculati pure in peritoneo con parassiti e prodotti, tre presentarono tumori analoghi ai precedenti, il quarto dette resultato negativo. Coi soli prodotti furono inoculati 2 cani nel connettivo sottocutaneo, in vicinanza del pene, uno ucciso dopo un mese, presentava un ingrossamento dei follicoli linfatici normali della mucosa prepuziale, con presenza in essi di cellule neoplastiche circondate da elementi d'infiltrazione, l'altro morì spontaneamente ed aveva un tumore sulla mucosa prepuziale, che il *Sanfelice* ritiene fosse un sarcoma a cellule rotonde, uguale a quello osservato da *Sticker*, vi erano metastasi nelle ghiandole linfatiche e nel fegato. Una cagna, inoculata in prossimità di una mammella, pure coi soli prodotti solubili, presentò un tumore grosso come un uovo di pollo; fu uccisa dopo 5 mesi; il tumore principale aveva la struttura di un adeno-carcinoma; la stessa struttura, ma meno evidente mostravano dei noduli metastatici del polmone. Infine 3 cani, inoculati nelle vene con prodotti solubili e parassiti, presentarono nei vari organi noduli di struttura sarcomatosa.

Con la medesima tecnica adoperata per i cani, il *Sanfelice* esperimentò pure sui gatti, i conigli e le cavie: sopra 16 gatti, 2, inoculati nell' addome coi prodotti solubili, presentarono formazioni sarcomatose nell'omento, con metastasi viscerali; di altri 3, inoculati nello stesso modo con parassiti e prodotti, uno dette resultato negativo, due ebbero tumori analoghi ai precedenti; 3 gatti, ino-

culati pure coi parassiti e i loro prodotti nelle vene, mostrarono noduli sarcomatosi multipli come i cani; infine in 8 gatti, inoculati col medesimo materiale nella trachea, si svilupparono delle neoformazioni nei polmoni, che il *Sanfelice* ritenne come endoteliomi, in un caso esistevano metastasi nel rene.

Fra i conigli, tre inoculati coi soli prodotti nel tessuto connettivo sottocutaneo, presentarono delle raccolte purisimili (culture negative) circondate da una zona di cellule ad ampio protoplasma e nucleo vescicolare e da cellule giganti; in alcune di esse si vedeva del pigmento bruno derivante dalla cultura iniettata; nelle ghiandole linfatiche, nel fegato e nel polmone vi erano noduli costituiti dalle stesse cellule, pure contenenti pigmento; alcuni di essi presentavano nel centro una massa granulosa con detrito cromatico. Il *Sanfelice* afferma che queste lesioni, quantunque presentino il carattere di quelle infiammatorie, devono essere avvicinate a quelle di natura neoplastica, ritenendo che i noduli viscerali siano dati da trasporto metastatico di elementi cellulari. Coi prodotti solubili soli furono iniettati nel peritoneo 6 conigli; tutti presentarono neoformazioni nell'omento (culture negative) e noduli nelle ghiandole linfatiche e nei visceri istologicamente uguali a quelli descritti nei conigli precedenti. Lo stesso reperto si ebbe in 3 conigli inoculati pure nel peritoneo coi parassiti insieme con i loro prodotti solubili. Colla infezione peritoneale di soli parassiti invece si ebbe un unico resultato positivo sopra 4 animali in esperimento; il coniglio presentava dei noduli nel peritoneo, nel fegato, nei reni, di struttura uguale a quella delle neoformazioni descritte nei conigli precedenti; lo stesso tessuto neoformato dava ai polmoni l'aspetto di una epatizzazione di alcuni lobi. Due conigli infine, inoculati nelle vene coi parassiti e i prodotti insieme, mostrarono accumuli multipli di cellule neoformate di aspetto endoteliale, nei diversi visceri. Le inoculazioni dei soli prodotti solubili nel peritoneo e nel tessuto sottocutaneo, praticate nelle cavie, dettero resultati analoghi a quelli ottenuti nei conigli.

Un' altra numerosa serie di esperienza il *Sanfelice* pubblicò nel 1908. Si tratta ancora della inoculazione dei prodotti solubili di blastomiceti patogeni, ottenuti triturando ed emulsionando i terreni di cultura costituiti da patate o da tessuti cotti di cane (fe-

gato, milza), previa asportazione della patina culturale. Sopra 12 cani, iniettati in tal modo nella cavità addominale, l' A. riferisce come più tipici i resultati osservati in sei di essi. Nel primo si sviluppò un endotelioma del polmone, con noduli metastatici nel pericardio e nelle ghiandole mediastiniche; è notevole il fatto dello sviluppo del tumore in sede diversa da quella inoculata; in altri cinque cani si ebbero tumori dell'omento (endoteliomi), con metastasi linfatiche e viscerali più o meno diffuse. Due cagne, inoculate nelle mammelle, presentarono delle neoformazioni di cellule a tipo epitelioide senza partecipazione dell'epitelio ghiandolare e senza formazione di metastasi; anche in questi due casi il *Sanfelice* ritiene si tratti di veri neoplasmi di natura sarcomatosa e li indica come periteliomi. Cinque cani, inoculati nelle vene, mostrarono delle neoformazioni connettivali di cellule endoteliali, più o meno diffuse nei vari organi. Altri animali, inoculati per controllo con emulsioni degli stessi terreni nutritivi, in cui i parassiti non avevano vegetato, non vennero mai a morte spontaneamente e presentarono lesioni limitate ai soli polmoni, costituite da formazioni analoghe ai tubercoli da corpi estranei.

Il *Sanfelice* estendendo le esperienze anche ai ratti bianchi e ai topi grigi, colla inoculazione di soli prodotti solubili in addome, sopra nove ratti, ottenne sempre la produzione di neoplasie, che egli qualifica come endoteliomi, o sviluppate nell'omento e diffuse metastaticamente in altri organi, oppure, in alcuni casi, sviluppate a distanza, nel polmone con noduli secondari renali e linfatici. Resultati simili dettero i topi grigi, uno di questi, inoculato invece nel connettivo sottocutaneo, presentò nel punto d' innesto un tumore, derivato dalla ghiandole sebacee, colla struttura dell'adeno-carcinoma; non è detto se vi fossero metastasi. I conigli sembrano poco sensibili all'azione delle tossine blastomicetiche, in due di essi, inoculati in addome, si ebbe la formazione di un tumore nel polmone, colla struttura di un adeno-carcinoma, non vi erano metastasi. In altri conigli, inoculati per controllo con culture su patata di streptotrichee, di blastomiceti isolati dall'aria e di aspergilli, si ottenne solamente la formazione di tessuto di granulazione. Anche i gatti sono poco sensibili alla azione delle sole tossine; tre di essi, inoculati in addome con parassiti insieme coi prodotti solubili, pre-

sentarono tumori dell' omento con noduli nel fegato, nei reni e nelle ghiandole linfatiche, di struttura uguale a quelli ottenuti nei cani e nei ratti.

Infine nel suo ultimo lavoro (1908) il *Sanfelice* riferisce i resultati ottenuti inoculando, non più le emulsioni di terreni nutritivi solidi, ma nuovi terreni liquidi, di cui non dice la composizione e nei quali si avrebbe un abbondante produzione di tossine. Con questo mezzo si evitava l'azione delle particelle di terreno solido, che avrebbero potuto agire come corpi estranei. Tali culture devono esser fatte in tubi chiusi e conservate all'oscuro per molto tempo (5-6 mesi), affinchè si accumulino in esse sufficienti quantità di tossina. In alcune di quelle adoperate per le esperienze i parassiti erano ancora vivi, in altre morti, ma l'A. non specifica nel corso dell'esposizione quali animali furono inoculati con culture ancora vive e quali con culture già morte.

Con questo materiale si produssero nei cani: in un caso un tumore del grande omento con metastasi nella milza, nel fegato e nei reni; in due casi un tumore analogo, con noduli solo superficiali nella milza, nel fegato e nei reni; in altri due casi le metastasi erano solo microscopiche nei polmoni: in nessun di questi è detto che vi fossero metastasi linfatiche; si trattava sempre di tumori di struttura endoteliale; in altri due cani invece si ebbe solamente un tumore della milza colla struttura del linfosarcoma e in un altro infine un tumore di struttura alveolare ad epitelio cilindrico in un polmone. Col medesimo materiale furono inoculati 40 ratti nell'addome ed in tutti si ebbe la formazione di tumori endoteliali nella cavità peritoneale con metastasi viscerali più o meno diffuse; in un ratto che aveva partorito si osservarono nei polmoni dei noduli di elementi placentari e sinciziali. I tumori così ottenuti nei ratti si sono dimostrati trapiantabili ad altri animali per 3, 4, 5 generazioni: talvolta, anche coi trapianti, non si ebbe lo sviluppo del nuovo tumore nel punto d'innesto (addome), ma nel polmone; l'A. non dice se per il trapianto servivano i tumori prodotti con culture vive o quelli ottenuti con culture morte.

Infine il *Sanfelice* fece alcune esperienze di sieroterapia, trattando cani affetti da tumori spontanei col siero di altri cani sottoposti a ripetute inoculazioni di blastomiceti morti e tossine atte-

nuate; con questo trattamento egli avrebbe osservato la regressione ed in certi casi la guarigione completa del tumore; ma queste esperienze sono ancora troppo poco numerose e in gran parte compiute su animali affetti da linfosarcoma (di *Sticker*), che, come è noto, può guarire anche spontaneamente, perchè si possa attribuire ad esse un gran valore a sostegno della eziologia blastomicetica dei tumori. Il *Sanfelice* conclude le sue ricerche affermando che i blastomiceti patogeni sono molto diffusi sulla cute e sulle mucose; che essi sono capaci di dar luogo a vere infezioni, in cui i parassiti sono molto numerosi e la reazione dei tessuti e scarsa, ed a vere intossicazioni, nelle quali invece la moltiplicazione degli elementi cellulari è più abbondante ed è dovuta ad un prodotto solubile, ad una tossina elaborata dai blastomiceti. Questa tossina può esser elaborata anche su speciali terreni nutritivi. Nell'uomo sono piuttosto rare le infezioni blastomicetiche locali (pseudotumori) o diffuse (blastomicosi); sono invece frequenti le intossicazioni, cioè i tumori maligni. I parassiti, moltiplicandosi, producono la tossina e questa può fissarsi su cellule che si trovino in speciali condizioni di recettività, anche poste a distanza dal luogo di produzione della tossina stessa. La tossina fissata dalla cellula rappresenta lo stimolo alla loro riproduzione atipica. Il parassita agisce solo nel primo momento, in seguito è la tossina che dà luogo alla formazione del tumore. La presenza di parassiti nei tessuti provoca la produzione da parte dell'organismo di speciali anticorpi, i quali hanno la proprietà di uccidere i blastomiceti, trasformandoli in corpi di *Russell;* questi rimangono come *caput mortuum* nel tessuto neoplastico. Ciò spiega la difficoltà di trovare blastomiceti ancora viventi nei tumori, e quindi di coltivarli. La tossina, fissata delle cellule neoplastiche, rimane integra e si trasmette da cellula a cellula; le cellule portano in sè lo stimolo alla moltiplicazione atipica e ciò spiega l'attecchimento dei trapianti, anche in numerose generazioni di animali. La tossina può essere neutralizzata nelle cellule da una antitossina.

Abbiamo esposto fin qui con una certa larghezza i resultati delle esperienze e le conclusioni del *Sanfelice;* delle obbiezioni che sono state mosse alla sua teoria ed anche all'interpretazione che egli dà ai fatti osservati, diremo in seguito, facendo la critica

delle varie ipotesi parassitarie sull'eziologia dei tumori maligni, e vi torneremo anche dopo esposti i resultati delle nostre esperienze personali. Qui dobbiamo ancora ricordare le ricerche di alcuni osservatori, che hanno pure esperimentato coi blastomiceti sugli animali, per controllare i resultati del *Sanfelice*, e di altri autori che videro questi parassiti in diversi processi patologici, e ne studiarono l'azione patogena.

Fermi e *Aruch* (1895), inoculando un blastomicete isolato da un caso di farcino criptococcico, ottennero delle semplici suppurazioni.

Guarnieri (1896) descrisse il reperto istologico di blastomiceti in casi di congiuntivite tracomatosa, ed attribuì ad essi importanza eziologica in questo processo morboso.

Casagrandi (1896-99), esperimentando con un gran numero di blastomiceti, osservò in generale produzioni a carattere flogistico; colle inoculazioni nei bargigli e nelle creste dei polli ottenne lesioni che avevano l'apparenza istologica dei noduli del mollusco.

Anche il *Nesczadimenko* (1899), inoculando diversi blastomiceti nei comuni animali d'esperimento, produsse sempre fatti suppurativi.

Foulerton (1899), praticò pure inoculazioni di un gran numero di specie di blastomiceti di diversa provenienza ed ottenne solo la formazione di granulomi nel punto d'iniezione o a distanza.

Nello stesso anno *Petersen* ed *Exner*, colla inoculazione di blastomiceti nelle cavie, produssero degli pseudotumori, formati da ammassi di parassiti.

Wlaeff ha inoculato i blastomiceti isolati da diversi autori (*Curtis*, *Sanfelice*, *Plimmer*, ecc.), nei ratti, topi, conigli, cavie, gatti, scimmie e galli; nei ratti e nei topi osservò dei tumori che potevano invadere tutti gli organi e avevano l'aspetto di lipomi, fibromi e anche cancri, ritiene però che fossero di natura granulomatosa; in alcuni casi il processo granulomatoso, giungendo all'intestino o ai dotti pancreatici o biliari, può provocare la proliferazione dell'epitelio in forma adenomatosa, dando luogo a tumori epiteliali, nei quali i parassiti mancano o sono rari. In un altro lavoro di *Wlaeff* e *Weinberg* (1899) questi A. A. esprimono il parere che tali produzioni non siano veri tumori.

Stecksen (1901), isolò dei blastomiceti da 5 carcinomi e fece

delle esperienze di inoculazione col blastomicete di *Curtis*, ottenendo lo sviluppo di formazioni polipose, costituite quasi esclusivamente di blastomiceti, sulla cute e sulle mucose, o di ulcerazioni senza tendenza alla guarigione; si dichiara favorevole all'ipotesi blastomicetica dei tumori maligni.

Nichols (1902), fece delle ricerche istologiche e batteriologiche, in 16 casi di cancro del seno trovò 13 volte forme parassitarie; reperto negativo ebbe sopra 5 sarcomi, e in 13 casi di cancri epidermici e in due di cancri della bocca. Le culture riuscirono sempre negative. Praticò anche alcune inoculazioni nelle cavie e nei conigli coi blastomiceti di *Plimmer* e di *Sanfelice*; ma non ottenne neoplasmi ed osservò anzi che i parassiti negli animali presentano un aspetto differente che nei tumori; si dichiara contrario ad ammettere che i blastomiceti siano la causa di questa forma morbosa.

Anche lo *Sternberg* (1902) ha sottoposto a controllo le esperienze del *Sanfelice*, facendo un gran numere di inoculazioni coi blastomiceti di *Busse*, *Curtis*, *Leopold*, *Sanfelice*, ed altri. Colle iniezioni endovenose nei cani riprodusse delle alterazioni renali uguali a quelle ottenute dal *Sanfelice*, egli però non crede che siano veri tumori, perchè, seguendone le fasi di formazione, si convinse che erano granulomi (*Saccaromicomi*), simili ai tubercoli da corpi estranei; ebbe risultati negativi inoculando nella mammella ; neppure potè osservare la trasformazione dei blastomiceti in corpi di *Russell;* pensa che i casi positivi di *Sanfelice* fossero tumori spontanei, il cui numero non sarebbe eccessivo, sopra 59 cani esperimentati dal *Sanfelice*, e corrisponderebbe a quello dato dalle statistiche.

Cohn (1902), ha sperimentato con un blastomicete isolato dal *Klein* dal latte, come il *Klein* stesso, potè produrre solo fenomeni flogistici o formazione di granulomi o di pseudotumori costituiti da accumuli di microrganismi.

Langdon Frothingham (1902), osservò nel polmone di un cavallo una lesione simile ad un tumore, causato da un parassita che egli indica come una torula analoga a quelle di *Klein*, *Plimmier* e *Sanfelice*: con essa ottenne negli animali solo fenomeni flogistici e necrotici.

Blanchard (1903), con un blastomicete isolato da un'affezione dell'appendice, provocò delle forme locali o generali di blastomicosi.

Gangitano (1903), osservò e coltivò dei blastomiceti in un tumore cutaneo del piede, che aveva l'apparenza e la struttura di un sarcoma fascicolato, ma che egli ritiene fosse una forma di granuloma della pelle e precisamente una varietà di sarcoide cutaneo da blastomiceti. I parassiti isolati non producevano negli animali nessun lesione di particolare interesse.

Jensen (1903) e *Henke* (1904), sperimentando con varie culture di blastomiceti, non ottennero veri tumori.

Fabozzi (1904-5), ha studiato l'azione del *Saccharomyces neoformans* di *Sanfelice* sulla cornea e sugli innesti di epitelio nelle lamine corneali ed anche per iniezione endovenosa: non ha mai osservato formazioni di carattere neoplastico, ma solo produzioni di connettivo cicatriziale con tendenza alla regressione.

Galli-Valerio (1905), dimostrò istologicamente i blastomiceti in un caso di mollusco contagioso; i tentativi culturali riescirono negativi.

Vedeler (1905), osservò la presenza di numerosi blastomiceti endocellulari in un caso di cistoadenoma dell'ovario; inoltre trovò di frequente questi parassiti nell'orina di cancerosi e di individui sani che avevano cancerosi in famiglia; successivamente (1908) li incontrò anche nello sputo, nel latte, in diversi tumori, nel sangue di vitelli e di topi e nel sangue di 206 donne sopra 221 esaminate senza scelta (?), crede che non abbiano significato patologico. Per quanto la diffusione di questi microrganismi sia notevole, la frequenza con cui il *Vedeler* li ha trovati fa pensare che egli non si sia valso, nelle sue ricerche, di tutte le cautele necessarie nella tecnica batteriologica.

Steinhaus (1907), isolò da una membrana tracheale, in un caso di scarlattina con sintomi crupali, un blastomicete (*Saccharomyces membranogenes*), patogeno per gli animali che, a differenza degli altri fin qui descritti, offriva la particolarità di produrre focolai di infiammazione acuta essudativa ed emorragica.

Schilling (1908), iniettando nelle vene dei conigli i blastomiceti di *Busse* e di *Klein*, osservò nella mucosa nasale la formazione di nodulini granulomatosi, simili ai tubercoli.

Razzaboni (1909), descrisse un sarcoide della gamba contenente blastomiceti; come il *Gangitano* anche egli ritiene che si tratti di granulomi e che i blastomiceti abbiano importanza nella loro eziologia.

Allen J. Smith (1909) ha pure descritto delle lesioni cutanee d'apparenza epiteliomatosa, con presenza di forme parassitarie blastomicetoidi, che egli crede siano organismi più elevati dei blastomiceti.

E) *Altri funghi.* — Oltre i blastomiceti, altri funghi furono descritti e ritenuti come causa di tumori, e per quanto i resultati relativi a queste ricerche siano stati per lo più combattuti e giudicati privi di valore, pure li riferiremo brevemente.

Citiamo come osservazione unica, e d'interesse puramente storico, quella di *V. Niessen* (1894), il quale studiando il sangue ed i tessuti in un caso di cancro dell'utero, trovò, fra altri microrganismi, un fungo verde scuro, con caratteri intermedi fra quelli dei blastomiceti e degli ifomiceti, che egli chiamò *Canceromyces*, attribuendogli importanza eziologica.

Il *Braithwaitce* osservò dei miceli in un carcinoma e il *Kremer* (1896) descrisse in lesioni sifilitiche, in carcinomi e sarcomi (specialmente della cute e delle mucose e ulcerati) delle forme di funghi con aspetti morfologici vari; li chiamò *Carcinomaspergillus*, riescì a coltivarli, ma le esperienze sugli animali non dettero resultati concludenti; l'A. non si pronunzia sulla importanza eziologica di questi funghi.

Chevalier (1899) descrisse un parassita vegetale, che egli isolò dai tumori tolti al vivente, da noduli metastatici del cadavere, dal sangue e perfino dall'aria delle sale dei cancerosi. Esso presenta delle spore di color rosso, si può coltivare ed è molto resistente. È costituito da cellule di vario aspetto e dà luogo alla formazione di un micelio, con conidi e spore. Inoculandolo nel peritoneo o sottocute si possono produrre dei tumori somiglianti a epiteliomi, carcinomi o fibrosarcomi, con diffusione linfatica e viscerale. Queste ricerche non sono mai state confermate da altri osservatori.

In una serie di pubblicazioni (1898-1900-9) il *Bra* sostiene di avere scoperto l'agente patogeno del cancro in un fungo, che appartiene probabilmente alla famiglia dei Pirenomiceti.

Egli afferma di averlo coltivato da carcinomi e da sarcomi e dal sangue dei malati, ne descrive i diversi stadi di sviluppo, che sono principalmente una forma a conidio, con cellule cilindriche di volume molto vario, che può dare miceli allungati, ed una forma globosa, con cellule rotonde ed ovoidi; queste varie forme somigliano nei loro particolari protoplasmatici e nucleari a quelle delle cellule proprie dei tessuti, alle cui spese vive il parassita, sostituendosi ad esse e prendendone l'apparenza, per un fenomeno di mimetismo. Secondo il *Bra*, coltivando il fungo in uno speciale brodo preparato con cute di maiale, si osservano tutte le forme che hanno l'aspetto delle cellule dei tumori. I tumori, che l'A. afferma di aver riprodotto, non lasciano persuasi che si tratti di veri neoplasmi maligni. *Bra* ha anche tentato la sieroterapia coi prodotti solubili del suo fungo e con la *Nectrianina*, preparata colle culture di *Nectria ditissima*, il parassita del cancro degli alberi; i resultati di miglioramento, da lui descritti, non sono stati confermati da altri sperimentatori.

Anche *Behla* (1900-3-8) sostiene che l'agente del cancro sia un fungo del legno, una *chytridiacea*, e con ciò spiega la frequenza del cancro, ammessa da certi autori, negli operai delle industrie del legno e negli abitanti dei fiumi con rive alberate; i suoi risultati sperimentali sono molto discutibili.

Woronin e *Navasckin* studiarono alcuni tumori, che si formano nelle radici dei cavoli e di altre crucifere, e videro che erano dovuti all'invasione delle cellule per parte di un parassita, che classificarono tra i mixomiceti, chiamandolo *Plasmodiophora brassicae;* sembra che esso stimoli la moltiplicazione nucleare. Partendo da queste osservazioni e dalla somiglianza che la Plasmodiophora presenta coi corpi descritti dal *Plimmer* nei tumori e con quelli analoghi detti « occhi d'uccello » (*Vogelaugen*) di *V. Leyden*, il *Podwyssotzki* (1900) fece delle esperienze, inoculando nelle cavie e nei conigli dei frammenti di tumori del cavolo, contenenti parassiti; ottenne la formazione di tumefazioni che andavano però incontro a regressione per degenerazione e riassorbimento. Si trattava certamente di neoformazioni connettivali granulomatose, costituite di grosse cellule epitelioidi e giganti e che ricordavano la struttura di un sarcoma; molte cellule contenevano spore di

Plasmodiophora e presentavano fenomeni cariocinetici. Tali spore fagocitate finiscono per esser distrutte e la neoformazione non progredisce. *Jarasjevitch* osservò che, uccidendo prima le spore nel frammento inoculato, il tumore non si produce. *Löwenthal* ripetè le esperienze, oltre che con la *Plasmodiophora brassicae*, con altri parassiti vegetali, giungendo a risultati negativi.

Saul (1906-10), in una serie di lavori, ha sostenuto che i più diversi agenti (protozoi, vermi) possono produrre il cancro, ma nelle esperienze praticate sui ratti colle inoculazioni di frammenti di tumori di cavoli o dei loro parassiti, osservò solo dei tumori di granulazione nel mesentere e iperplasie interstiziali connettivali e linfatiche nei reni e nei polmoni.

Recentemente il *Robertson* (1909), in un lavoro che egli, senza esitazione, intitola: « Prova sperimentale dell'origine infettiva del carcinoma », riferisce di avere inoculato e alimentato dei topi con liquido pleurico di pleurite cancerosa secondaria a cancro mammario, e con liquido di peritonite pure carcinomatosa; sopra 30 topi ottenne 3 adenocarcinomi mammari, un tumore del testicolo e 2 tumori dei polmoni e ne concluse che col liquido fu iniettato l'agente causale dei tumori prodotti; da quelli mammari isolò delle forme di miceli, che si vedevano anche nelle sezioni.

In generale si può affermare che di tutte le neoformazioni provocate coi funghi, descritti dai vari autori, nessuna presentava i caratteri delle neoplasie, si trattava sempre di granulomi, quali possono svilupparsi per azione dei più diversi parassiti. Parimente alla dimostrazione della presenza di queste specie di microrganismi in tumori dell'uomo, non deve attribuirsi un valore eziologico, perchè le rare ricerche di pochi non hanno trovato nessuna conferma per parte di altri osservatori.

2. Parassiti animali.

A). *Protozoi.* — La letteratura sulla presenza di protozoi quali parassiti nei tumori maligni è estesissima e troppo lungo sarebbe volerla ricordare tutta; in grandissima parte si tratta di ricerche puramente morfologiche, nelle quali, sia coll'esame a fresco, sia coi metodi istologici più svariati, non solo si è cercato di

dimostrare l'esistenza di protozoi nei tessuti neoplastici, ma se ne sono descritti tutti gli stadi di sviluppo, deducendone il tipo dei protozoi stessi, che ora furono ritenuti come coccidi, ora come altri sporozoi, ora come rizopodi, ecc. La maggior parte di questi reperti hanno un valore solamente storico e noi li ricorderemo solo brevemente; un gran numero di osservatori hanno dimostrato che queste supposte forme parassitarie, se non sempre, molte volte sono prodotti di degenerazione protoplasmatica o nucleare o inclusioni cellulari. Solo di recente si è cercato di suffragare la dimostrazione istologica con prove batteriologiche e biologiche, tentando di far moltiplicare *in vitro* tali presunti parassiti e di inocularli agli animali; queste esperienze, che mirano quindi a dare la dimostrazione diretta dell'azione specifica di tali protozoi, sono per ora poco numerose e vedremo a quali resultati hanno condotto.

L'idea che fra i protozoi debba annoverarsi il parassita specifico dei tumori è derivata da due ordini di osservazioni: da un lato si riconobbero nelle cellule neoplastiche un gran numero di formazioni di oscura origine, che talvolta simulavano l'aspetto di elementi organizzati, e si cercò con minute indagini di studiarne i supposti stadi di sviluppo e di avvicinarle alle forme note di parassiti protozoari, quali si osservano in malattie di altre specie cellulari (elementi del sangue ecc.); d'altra parte si vide che microrganismi di tale natura erano capaci di dare alcune malattie spontanee degli animali, accompagnate da proliferazioni di dati tessuti (epiteli), come, per es. la coccidiosi del coniglio.

Uno dei primi che attribuì importanza eziologica ai protozoi nei tumori fu *L. Pfeiffer* (1881), il quale osservò a fresco, nelle cellule di due cancri melanotici, dei parassiti a tipo di protozoo, che presentavano degli stadi di sviluppo simili alla sporulazione dei microsporidi; egli ammise che nei diversi cancri vi fossero varie specie di protozoi.

Nel 1889 *Albarran* trovò dei corpi simili ai psorospermi del fegato del coniglio in due tumori epiteliali della mascella, e in tumori epiteliali li osservarono pure il *Malassez* in Francia, il *Thoma* in Russia ed altri.

Nel 1890 descrisse dei protozoi in 6 casi di carcinoma il *Sjobring*, classificandoli fra i microsporidi; nello stesso anno *Heu-*

kelom, sopra 200 tumori, trovò due forme sferiche che giudicò con grande probabilità come protozoi, senza pronunziarsi però sul loro valore eziologico; invece il *Kossinsky* stimò senz'altro che fossero parassiti. Anche *Marchand*, *Vincent* e *Wright* sostennero contemporaneamente la natura parassitaria di questi corpi. Dello stesso anno, 1890, è la pubblicazione di *Russell*, il quale però tendeva piuttosto, come dicemmo, a ritenere tali formazioni per blastomiceti. I lavori di *Klebs*, *Firket*, *Borrel*, *Schütz* miravano invece a dimostrare che si trattasse di inclusioni o degenerazioni cellulari.

Nel 1891 anche *Fabre-Domergue*, *Pilliet*, *Duplay* e *Cazin*, *Cornil*, *Hansemann*, *Ribbert* riconobbero che non si aveva che fare con veri parassiti; *Stroebe* descrisse le stesse forme, senza pronunziarsi sulla loro interpretazione e *Steinhaus* pure. *Soudakewitsch* ammise la possibilità di una proliferazione carcinomatosa dovuta a protozoi. Anche *Delépine* (1892) afferma che non è dimostrata la natura parassitaria di queste formazioni.

Podwissozki e *Sawtschencko* (1892), in molti casi di tumori cancerosi dei più diversi organi, descrissero un protozoo, che si presenta sotto varie forme, fra le quali una di sporociste ripiena di spore falciformi, che essi ritengono come caratteristica per dimostrarne la natura parassitaria: è analogo ai parassiti descritti da *Sjöbring* e a quelli osservati nel mollusco contagioso (*Klebs*, *Neisser*, ecc.) e nel morbo di *Paget*. Quanto alla sua importanza eziologica nei processi di proliferazione cellulare, gli A. A. riconoscono che per ora non è provata, ma credono che la rarità dei parassiti nelle forme a lento sviluppo, in confronto alla loro abbondanza nei cancri midollari, la presenza di numerose mitosi vicino alle sporocisti e nelle cellule contenenti parassiti, siano fatti che possono invocarsi in favore del loro valore patogenico; potrebbe anche trattarsi di un fenomeno di simbiosi o commensalismo, tra cellule epiteliali e protozoi, capace di influire sullo sviluppo del tumore o di nuocere all'organismo; *Sawtschencko* successivamente (1894) indicò il protozoo col nome di *Histozoon neoplasmalis*.

Pure del 1892 è il primo lavoro di *Ruffer* e *Walker* che, in casi di cancro di vari organi (seno, lingua, stomaco, fegato, retto, vie biliari, epiglottide), trovarono dei corpi endocellulari, che ritennero per protozoi e che non poterono dimostrare in altri tessuti.

Steinhaus affermò che questi parassiti sono sporozoari. *Soudakewitch*, studiando 95 casi di carcinoma, vide le stesse formazioni intracellulari, raramente estracellulari, descrivendone anche la produzione delle spore. *Foà* osservò pure delle forme analoghe, ma sopra 70 cancri esaminati, solo in 4 riconobbe che si trattava sicuramente di parassiti; egli crede che non tutte le apparenze ritenute come protozoi siano veramente tali. Per alcune, riscontrate in cancri chiusi ed in metastasi, descrive i vari stadi di sviluppo, da forme piccole coccidio–simili ad altre più grosse vescicolari, oppure corpi a contenuto granuloso e le forme così dette « a coccarda » ; egli crede non inverosimile che la loro presenza stia in rapporto collo sviluppo del cancro. Successivamente lo stesso *Foà* ammise che i lavori di *Aschoff*, *Marchand*, *Embden*, e specialmente di *Apolant* e di *Unna*, dimostrano che la natura parassitaria di tutte le formazioni endocellulari, descritte dai diversi autori, non è sicuramente accertata, perchè le stesse apparenze morfologiche possono esser prodotte da vari processi cellulari, in parte di natura secretiva o escretiva, in parte di natura regressiva, o di alterata proliferazione.

Negli anni 1892-4 si ebbe sull'argomento dei protozoi nei tumori un grandissimo numero di pubblicazioni, quali contro, quali in favore di questa ipotesi, tutte però basate unicamente sopra dati morfologici; ricordiamo ancora alcune delle più importanti.

Soudakewitch (1893), sopra 85 cancri esaminati, solo in 6 cancroidi non trovò le forme che egli considera come sporozoi e delle quali dà una minuta descrizione. Nuovi reperti analoghi riferirono il *Ruffer* e il *Plimmer*, ritenendo trattarsi pure di protozoi, il *Ruffer* sosteneva anzi che solo le forme descritte da lui e dai suoi collaboratori e da *Foà* fossero veri parassiti, e quelle invece di *Wickham*, *Podwyssozki*, *Sawtschenko* rappresentassero il prodotto di inclusioni o degenerazioni cellulari. Secondo *L. Pfeiffer* i parassiti del cancro sono amebosporidi e si presentano in due forme, una intracellulare, o ciste duratura, o spora duratura, ed una estracellulare, o zoospora, che infiltra i tessuti prossimi al neoplasma, e può somigliare alle piccole cellule d'infiltrazione che si trovano alla periferia dei tumori; egli crede anche che, accanto al carcinoma epiteliale, esistano forme di tumore indubbiamente parassi-

tarie, nelle quali le *cellule epiteliali apparenti* sono date da sporozoi. Uno sporozoo descrisse pure il *Korotneff* (1893) e lo chiamò *Rhopalocephalus carcinomatosus*; dice che si trova in tutti i carcinomi e che si presenta sotto tre forme, come gregarina, come coccidio, e come ameba. La forma adulta (gregarina) è a nastro e somiglia ad un cestode; le forme giovani sono a clava o ellittiche, quando si trovano in cattive condizioni nutritive s'incistano, prendendo l'aspetto di coccidi; da questi si sviluppano degli zooidi, che danno luogo alla gregarina, o degli sporozooidi, che si trasformano in forme ameboidi, queste possono invadere tutto l'organismo e colle loro tossine producono la cachessia; dalle amebe nascono pure degli zooidi. Senza la presenza del parassita il cancro sarebbe un tumore innocuo (?). Nè *Kurloff*, nè altri autori, hanno potuto confermare l'esistenza di questo speciale parassita col suo complicato ciclo di sviluppo. *Cattle* e *Miller* (1893) ritengono pure come sporozoi le inclusioni cellulari da essi trovate nei tumori. Nello stesso periodo di tempo (1893) una serie di lavori di controllo combattevano la natura parassitaria di tutte queste formazioni, considerandole semplicemente come prodotti di degenerazione delle cellule o dei leucociti inclusi nelle cellule stesse; ricordiamo quelli di *Banti*, *Snow*, *Claessen*, *Massari* e *Ferroni*, *Török* ed altri; *Steven* e *Brown* non si pronunziano sulla loro natura. Il *Ribbert* (1894), in un lavoro critico, prende in esame tutti i supposti parassiti descritti dai precedenti osservatori e conclude che per nessuno di essi è sicuramente dimostrato che siano tali e non piuttosto prodotti vari di alterazione cellulare. Anche nell'anno 1894 le pubblicazioni pro e contro la tanto discussa teoria non mancano; citiamo, fra i numerosi lavori, quelli di *Muller*, che trovò i protozoi nei cancri dell'utero, di *Adler*, il quale però non attribuisce loro importanza specifica, di *Kahane*, che descrisse forme ameboidi viventi e sporulanti nei frammenti di tumori esaminati a fresco ed anche nel sangue circolante dei malati. *Clarke*, e prima di lui anche altri (*Cobbold*), osservarono sporozoi in sarcomi di varie regioni del corpo; *Vedeler*, oltre che nei sarcomi, trovò dei protozoi in un mioma uterino e perciò ritiene che anche i tumori benigni siano di natura parassitaria.

Jurgens (1895) vide dei parassiti capsulati in un sarcoma

melanotico e dice di averlo trapiantato con esito positivo nei conigli, ritrovando le stesse forme nei tumori riprodotti.

Merita di essere accennata, per la sua stranezza, la teoria di *Adamkiewicz*, il quale crede che le cellule stesse del cancro siano parassiti, che egli chiama *Sarcoliti* e classifica fra i coccidi; poichè innestando dei tumori umani nel cervello di conigli questi muoiono in 3 giorni al massimo, con alterazioni che egli ritiene effetto di metastasi da trapianto, *Adamkiewicz* considera la morte dell'animale come effetto del veleno canceroso, la *cancroina*, che per la sua azione è analoga alla neurina; da questo fatto l'A. ha creduto di poter indurre che la *neurina* dovesse avere azione curativa sui tumori e la mette in commercio in soluz. 25 °/₀₀, neutralizzata con ac. citrico e con aggiunta di fenolo, sotto il nome di *cancroina*. È inutile dire che le numerose ricerche di controllo di altri non hanno confermato questa supposta azione terapeutica del preparato.

Una certa analogia con quella di *Adamkiewicz*, ha la teoria di *Kelling*, che qui incidentalmente ricordiamo, per quanto essa non possa classificarsi tra le ipotesi protozoarie sulla eziologia dei tumori. Secondo *Kelling* le cellule dei tumori maligni non appartengono all'organismo ammalato, ma sono cellule embrionali di altri animali, entrate nel corpo di preferenza per la via digerente, e moltiplicatesi in esso senza limiti. La teoria non merita discussione perchè è noto oramai che le cellule animali non attecchiscono su organismi di specie differente, per quanto *Kelling* affermi di aver ottenuto tumori nei cani, inoculando cellule di lumache o di embrioni di pollo e di porco, e voglia sostenere la sua dottrina anche con prove sierologiche di precipitazione, che non sono state confermate da altri osservatori.

Citiamo ancora, fra gli autori che nel periodo di tempo già ricordato (1894) negarono il reperto di protozoi nei tumori, *Duplay* e *Cazin*, i quali descrissero minutamente le modificazioni dei nuclei in divisione e le inclusioni e degenerazioni leucocitarie, che possono simulare l'aspetto di parassiti. *Ohlmacher* ha esaminato, coi metodi comunemente impiegati per i neoplasmi, dei reni di rospo contenenti mixosporidi ed ha veduto in seguito ai reattivi usati prodursi una quantità di forme artificiali, onde conclude che tutte le ricerche fatte con questi metodi sui tumori, sono prive di valore.

Anche *Ramon y Cayal* (1896), in uno studio istologico sopra i più diversi tessuti, trovò in molti di essi, di natura non neoplastica, i corpi fucsinofili, ritenuti come parassiti e affermò che sono prodotti di alterazione cellulare.

I primi tentativi di suffragare la teoria protozoaria, fin'allora basata sulla ricerca istologica, con esperienze di coltivazione e di inoculazione negli animali sono quelli di *Bosc* (1897-1901), egli, in una serie di lavori, ha sostenuto che non esiste una distinzione netta fra malattie microbiche acute e tumori maligni; dalle prime ai secondi si avrebbe una catena non interrotta di forme morbose costituite dalla tubercolosi, actinomicosi, bilharziosi, vaccino, vaiolo, afta, sifilide ecc. Fra queste il vaccino, il vaiolo, la sifilide e il cancro sarebbero dovute a sporozoi. Iniettando linfa del vaiolo ovino nel tessuto perimammario di pecore avrebbe ottenuto dei tumori che presentavano tutte le forme di passaggio dell'adenoma acinoso all'adenoepitelioma e all'epitelioma tipico e atipico.

Lo sporozoo del cancro, secondo *Bosc*, presenta una riproduzione asessuale (schizogonia) ed una sessuale (sporogonia), delle quali descrive varie forme del microrganismo (merozoite ecc.). Innestando succo di cancro fresco su terreni adatti (liquido ascitico, siero, terreni con albumina d'uovo o con sangue ed estratto di sanguisughe), si ha sviluppo dei parassiti, ma le culture non sono trapiantabili. L'A. afferma di aver trapiantato tumori da uomo ad animale, riproducendo forme di struttura differente; ma non li ha mai ottenuti colle sue culture: ritiene però di averne prodotti con culture pure di altri sporozoi (Coccidio oviforme, Klossia, Cisti del lombrico). Egli afferma che la struttura del tumore non ha nessun valore dal punto di vista patogenetico, il parassita è tutto e il suo studio permette di capire lo sviluppo, sotto la sua influenza, delle produzioni neoplastiche. Sostiene anche la sua teoria con argomenti epidemiologici, dicendo che gli sporozoi sono diffusissimi anche fra gli animali domestici e costituiscono un pericolo per l'uomo; tutti gli insetti, vermi, molluschi, contengono quantità enormi di spore di tali protozoi e ciò spiega la frequenza del cancro nei luoghi umidi e boscosi e di quello di stomaco nei luoghi ove si mangiano molte chiocciole crude (?). A dimostrazione dei suoi asserti *Bosc* cita il caso di un cancro della lingua seguito

a penetrazione di un frammento di lisca di pesce; di uno della faccia, nel punto in cui fu schiacciata una mosca (?) e di un epitelioma del calcagno, sviluppato nel punto col quale era stata calpestata una chiocciola (?).

Nils Sjöbring (1900) fece pure dei tentativi culturali da circa 30 tumori umani in liquido ascitico, ed in un terreno speciale composto di gelatina peptonizzata aggiunta di sapone potassico, preparato con grasso umano, e di saccarosio e glucosio. Le culture si osservano a fresco o colla colorazione vitale, perchè i parassiti non si possono fissare; questi presentano le forme più svariate (ameboidi, rizopodiche, ecc.) e forme d'involuzione simili a corpi di *Russell.* Si tratterebbe di *Rizopodi.* Colle inoculazioni, praticate in 8 topi, si ottennero: un carcinoma a cellule cilindriche, derivato dalle ghiandole sebacee o dal sacco pilifero; una ciste, piena di detrito necrotico, rivestita da epitelio piatto, con gettoni penetranti nel tessuto infiltrato circostante; un cistoma colloide dell'epididimo; un adenoma delle ghiandole sebacee; in queste neoformazioni si ritrovarono i parassiti; *Israel,* che ha controllato queste ricerche, non le ha potute confermare.

Il *Gaylord* (1901) ritenne per protozoi delle formazioni endocellulari, probabilmente di natura degenerativa, osservate in noduli epiteliali, che si svilupparono nel polmone di una cavie inoculata col liquido peritoneale di un caso di adenocarcinoma dell' appendice.

Feinberg (1902-3) trovò nei tumori un parassita intracellulare, l'*Histoporidium carcinomatosum*, del quale dà le caratteristiche morfologiche, che sarebbero tipiche per i protozoi.

Anche *Jaboulay* descrisse con i più minuti particolari i vari stadi di sviluppo di un mixosporidio, che egli ritiene l'agente patogeno dei tumori e che crede provenga delle acque luride, dagli erbaggi, molluschi, pesci, ecc.; pensa che i diversi stadi di vita di questo parassita siano stati interpretati come tanti microrganismi differenti e corrispondenti ai psorospermi di *Albarran*, alle spore di *Plimmer*, e alle formazioni osservate da *Soudakewitch.*

Schüller (1900-906) afferma di avere scoperto l'unica e vera causa dei tumori in un microrganismo che avrebbe coltivato conservando sterilmente in vasi di vetro chiusi, alla temperatura del

corpo, dei frammenti appena tolti dal tumore ancora caldo. Il parassita si trova in carcinomi e sarcomi; è dato da corpi giallo-bruni, capsulati, con granuli bruni nell' interno; è uno sporozoo, presenta forme flagellate e provoca la divisione dei nuclei cellulari. Inoculato negli animali si ritrova in tutti gli organi, e nel rene produce delle proliferazioni epiteliali atipiche. *Deejeten* ritiene che i corpi descritti da *Schüller* siano prodotti degenerativi; anche *Völker* nega la loro natura parassitaria e *Mohr* spiega senz' altro tutti i reperti di *Schüller* come effetti di inquinamento. *Karwacki* (1905), coltivando dei tumori in terreni liquidi, ottenne talvolta forme analoghe a quelle di *Schüller*, ma non potè stabilire se fossero protozoi o prodotti degenerativi.

O. Schmidt, ed i suoi collaboratori *Hosemann* e *Profé*, in una serie di pubblicazioni (1905-909) hanno descritto un parassita che, colle inoculazioni negli animali, sembra aver dato dei risultati di una certa importanza. *Schmidt* ha coltivato da tumori maligni dell' uomo e dei topi una muffa, il *mucor racemosus* (sette volte sopra 30 casi), nella quale ha osservato delle particolari formazioni simili a protozoi, che egli inclina a credere siano micetozoi, e che presentano apparenze analoghe a quelle osservate direttamente nei tumori. Questo parassita avrebbe un doppio ciclo di sviluppo, di cui uno stadio si svolgerebbe nel mucor e l'altro nell' organismo animale, e sarebbe dimostrabile in tutti i tumori. Il mucor, contenente parassiti, inoculato ad animali recettivi, produce, secondo *Schimdt*, dei tumori maligni; colle culture uccise o col siero è possibile preservare gli animali stessi dallo sviluppo dei neoplasmi ed infine con minime dosi di culture uccise si hanno negli ammalati reazioni specifiche locali e generali; iniezioni a dosi crescenti portano ad alterazioni regressive del tumore; questi resultati non sono stati confermati da altri. Nelle prime esperienze, sopra 80 animali inoculati, si ebbero 5 tumori (4 carcinomi del topo e un sarcoma del ratto); successivamente *Baisch*, che nella clinica di *Czerny* (Heidelberg), ripetè queste esperienze, ottenne, sopra 70 inoculazioni, un tumore maligno. La diagnosi istologica di questi neoplasmi fu confermata da *Hansemann*. Più tardi *Schmidt* stesso provocò la formazione di altri tumori (adenoma mammario maligno del ratto; adenocarcinoma del sottocutaneo del topo; sarcoma del crasso con

metastasi, del ratto; adenocarcinoma mammario del ratto) in modo che il numero totale nei neoplasmi ottenuti nel 1909 era di dieci.

Dai tumori così prodotti si può di nuovo coltivare il mucor. Le esperienze fatte con mucor racemosus non coltivato da tumori, ma di altra provenienza, riescirono negative. È molto importante il fatto che questi neoplasmi sperimentali sono trapiantabili ad alta percentuale di esiti positivi; da un trapianto fu ricoltivato il mucor; ed inoltre si sviluppano sempre nel punto d'innesto, anche se questo non corrisponde alla sede di predilezione naturale; si sono prodotti anche nei topi maschi, nei quali, come è noto, i tumori spontanei sono rarissimi. Talvolta questi neoplasmi regrediscono spontaneamente e *Schmidt* attribuisce tale fenomeno a poca virulenza del parassita.

Lewin ammette che in queste esperienze si abbia realmente che fare colla produzione di tumori maligni per azione di parassiti, per quanto non ritenga pienamente confermati i dati di *Schmidt* sulle culture del suo microrganismo. Anche *Dungern* e *Werner* credono dimostrato che si tratti di veri tumori maligni ottenuti colla inoculazione delle culture di mucor. Più dubbia sembra invece la natura del parassita in esso contenuto, *Schuberg* afferma recisamente che i presunti protozoi sono gocce di grasso.

Ricordiamo infine, per chiudere questa rivista sui supposti agenti protozoari dei tumori, che *Robertson* in 26 carcinomi, descrisse delle formazioni che considera come stadi di sviluppo di un protozoo, che mancherebbero nei tumori benigni e nei tessuti di natura infiammatoria o normali; egli afferma di aver coltivato questi parassiti sull'agar.

Anche *Saul* (1906-909) dà la descrizione di diverse forme di protozoi, ottenuti da tumori coltivati a lungo sull'agar; vi sarebbero forme amebiche o cistiche estracellulari, che si distruggono coi comuni metodi di fissazione e d'inclusione, e forme intracellulari, granulari e vacuolari, ed altre che sfuggono all'osservazione. Il *Saul* è uno strenuo difensore della teoria parassitaria dei tumori, che egli mette in analogia con quelli delle piante e che crede possano esser prodotti da varie specie di esseri organizzati (protozoi, vermi).

B). *Vermi.* — Un rapporto di dipendenza causale tra *vermi* e tumori maligni è stato affermato specialmente dal *Borrel*; il quale ritiene che i vermi (ed anche gli acari), se non come cause dirette di neoplasie, possano agire trasportandone l'ignoto parassita. Egli basa principalmente la sua opinione sui reperti avuti nei topi e nei ratti. In tumori spontanei recenti di topi trovò, nel centro della neoformazione, dei focolai di rammollimento contenenti *uncini chitinosi*; in un caso vide un *ascaris* in un carcinoma delle ghiandole sebacee, e in due adenocarcinomi della mammella osservò degli *elminti*. Una *taenia crassicicola* trovò nel centro di un sarcoma del fegato e in un adenocarcinoma del rene nei ratti. Due casi simili sono riferiti da *Regaud*; e da *Bashford* fu visto un *cestode* in un tumore degli intestini di un ratto. *Saul*, inoculando in quattro ratti il *cysticercus fasciolaris*, ottenne in uno un tumore che, egli dice, stava istologicamente al limite tra fibroma, sarcoma e tumore di granulazione. *Mc. Coy*, fra 18 sarcomi del fegato, osservati nei ratti selvatici a S. Francisco, trovò molti esemplari di *cysticercus fasciolaris*, il quale del resto s'incontra spesso nei ratti. Secondo *Borrel* l'ipotesi che i vermi intestinali siano i trasportatori del virus del cancro nell'interno degli organi, spiega la frequenza della malattia nel tratto intestinale e la sua diffusione nelle località umide. Contro le vedute di *Borrel* sta una statistica di *Kelling* (1909), fatta sul materiale clinico di 2086 adulti, dalla quale risulta che i vermi intestinali nei malati di cancro delle vie digerenti non sono più frequenti che nei sani. Recentemente *Endo* (1910) osservò un caso di adenoma destruente del retto che nello stroma periferico presentava numerose uova di *Schistosoma japonicum*, e ricordò che un caso simile fu descritto da *Kanamori*; *Kusama* vide le stesse uova in un carcinoma del fegato; *Yamagiva* riferisce pure di un cancro del fegato con pregressa epatite parassitaria embolica da uova di schistosoma, ed emette l'ipotesi che il processo neoplastico possa rappresentare un'esagerazione del processo di proliferazione riparatrice delle ulcerazioni prodotte dallo schistosoma.

C). *Artropodi.* — La stessa importanza che avrebbero i vermi per i tumori degli organi interni, attribuisce il *Borrel* a certi artropodi (acari) per quelli esterni della cute. Egli in 12 epiteliomi recenti della faccia, trovò sempre il *demodex folliculorum* (acaro dei

peli), anche nei piccoli noduli secondari; nei cancri mammari lo trovò sei volte sopra sette casi studiati.

Vi sarebbe un rapporto fra la presenza dei demodex nelle ghiandole sebacee e nei follicoli piliferi e l'inizio della trasformazione blastomatosa degli epiteli. Il *Veratti* giustamente osserva che i reperti sono ancora troppo scarsi per avere un valore e che la diagnosi istologica differenziale nelle forme iniziali osservate dal *Borrel*, fra vere neoplasie incipienti e iperplasie da irritazione cronica, è troppo difficile per essere in tutti i casi sicura. Anche il *Saul* vide nei tumori umani e animali degli acari che furono descritti ed indicati dal *Dahl* (1910) come *Tarsonemus hominis* e ritenuti analoghi a quelli che danno certi tumori delle piante. Recentemente *Tsunoda* (1910) ha negato ogni rapporto tra demodex e cancro, dicendo che nei sani si possono trovare questi acari nelle ghiandole sebacee del capezzolo normale.

Altri autori, che abbiamo ricordato parlando delle epidemie di cancri fra gli animali, hanno ritenuto che l'ignoto agente specifico possa esser trasmesso dalle punture di insetti (pulci, cimici, ecc.).

Considerazioni e critiche sulla teoria parassitaria.

Prima di passare alla esposizione delle nostre ricerche sperimentali, dobbiamo fare ancora alcune considerazioni sulla teoria eziologica parassitaria dei tumori. Molte di queste considerazioni e molte delle obiezioni più importanti che ad essa teoria sono state mosse, possono applicarsi all'ipotesi infettiva in generale, altre riguardano più particolarmente ciascuna delle singole dottrine, che abbiamo ricordato e che suppongono l'esistenza di uno speciale parassita.

Cominceremo col sottoporre ad analisi critica i vari argomenti che si sono portati a dimostrazione dell'origine infettiva dei neoplasmi.

Gli *argomenti clinici* non sono, per dir vero, i più importanti; la cachessia da tumori maligni, che è stata messa in rapporto coll'esistenza di tossine elaborate dai supposti parassiti, può altrimenti spiegarsi con le profonde alterazioni del ricambio materiale, che si

verificano in queste forme morbose o forse con speciali prodotti di secrezione elaborati dai tessuti patologici; la anemia e la discrasia sanguigna possono ripetere la stessa causa; e la febbre è assai poco frequente per poter valere a dimostrazione di una forma infettiva. L'argomento di *Czerny*, che la sede di predilezione dei tumori è nei punti più esposti all' azione delle cause dannose esterne, ha maggior importanza, ma se depone in favore dell' influenza di stimoli esterni, non prova che questi siano dati da esseri organizzati.

Infine la produzione di metastasi e la diffusione linfatica e sanguigna dei neoplasmi, sono state avvicinate alla formazione di localizzazioni batteriche a distanza dal focolaio infettivo primario, la quale pure avviene per trasporto linfatico e sanguigno. È quasi inutile rilevare come quì si tratti di una analogia solo apparente, inquantochè le metastasi neoplastiche sono date da trasporto di cellule del tumore; sono veri e propri auto-trapianti e i noduli che ne derivano si formano senza partecipazione (tranne per il poco connettivo dello stroma) delle cellule del nuovo tessuto colpito: mentre i focolai infettivi secondari sono provocati dal trasporto di germi e rappresentano la reazione ad essi del tessuto invaso.

Il *contagio* e le *epidemie* sono stati spesso citati come prova della natura infettiva dei tumori maligni; per il primo di tali fenomeni però si può senza esitazione ritenere che esso non vada interpretato in questo senso. Il contagio del cancro o del sarcoma, se pure è dimostrato, è troppo raro di fronte all'enorme frequenza della malattia; anzi è permesso affermare che, se anche i neoplasmi sono di natura parassitaria, essi non sono perciò contagiosi ed i rari casi sicuri di contagio, per es. fra coniugi nelle forme degli organi genitali, possono spiegarsi come casi di innesto o trapianto da un soggetto all'altro. Anche dalle ricerche sperimentali risulta che non è mai riescito trasmettere i tumori tenendo animali sani a contatto con altri ammalati.

Un altro fenomeno invece degno del massimo interesse, il quale finora non ha ricevuto una sufficiente spiegazione, è quello delle epidemie. Tralasciando di parlare delle epidemie nell'uomo, l' esistenza delle quali fino ad ora non sembra sufficientemente dimostrata, perchè le statistiche che sono portate in suo sostegno, si possono variamente interpretare, e non sono tutte concordi; è in-

negabile l' esistenza di manifestazioni epidemiche negli animali e particolarmente in dati allevamenti od in date gabbie. Per queste, anche secondo le recenti ricerche di *Bashford* e di *Borrel*, non sembra possa invocarsi un' influenza ereditaria; alcune osservazioni farebbero supporre una eventuale trasmissione per mezzo della puntura d' insetti, e certamente è difficile trovare per le epidemie una spiegazione soddisfacente all' infuori dell' ipotesi di un parassita, che possa restare nell'ambiente successivamente abitato da diversi animali o possa essere trasportato dall'uno all'altro per un veicolo ancora ignoto. In tutti i casi si deve però anche supporre la esistenza di una particolare recettività o predisposizione di alcuni tessuti e di alcuni animali verso lo sconosciuto agente patogeno, perchè si osserva, anche nei casi più dimostrativi di manifestazioni epidemiche, che sono pochi gli animali che ammalano, fra tutti quelli tenuti nelle medesime condizioni d'ambiente.

Poco è da dire riguardo ai *tumori delle piante*; questi sono realmente di natura parassitária, ma per i loro caratteri non è agevole avvicinarli ai tumori degli animali; essi sono costituiti da semplici proliferazioni cellulari di carattere irritativo; non dànno luogo a metastasi vere e proprie e si devono se mai ritenere analoghi piuttosto ai granulomi che ai neoplasmi.

Molto discussi invece sono stati i *resultati delle ricerche sperimentali sui tumori*, in rapporto al contributo che eventualmente abbiano potuto portare alla loro eziologia; abbiamo già veduto come il fatto della trasmissibilità dei neoplasmi, che è legato all' integrità dell' elemento cellulare, si debba interpretare come un innesto di cellule e non come un trasporto di parassiti. Si può anche aggiungere che, per quanto attualmente ci è noto sull' influenza che i microrganismi esercitano sulle cellule dei tessuti, essi in generale, se possono in primo tempo stimolarne le attività proliferative, finiscono poi per indebolirle e produrre nella cellula fenomeni regressivi; in nessun caso provocano un accrescimento cellulare senza limiti ed una emigrazione di questi elementi a distanza. Si dovrebbe quindi ammettere, come alcuni fanno, che fra il parassita e la cellula si stabilisse una specie di simbiosi per la quale un elemento giovi all'esistenza dell'altro, come si è osservato in certi organismi inferiori. Vi sono per es. delle alghe verdi capaci di vivere in

simbiosi con alcuni parameci (parameci verdi) non solo senza nuocere ad essi, ma accelerandone anzi la moltiplicazione, che avviene più rapidamente che in altri parameci (parameci incolori).

A prova dell'azione di un parassita nella trasmissione sperimentale dei tumori, è stato portato, come già altrove abbiamo detto, il fatto della produzione di tumori diversi da quello innestato. Questo fatto però, dagli avversari dell'ipotesi parassitaria, ha ricevuto una differente interpretazione; *Ehrlich* e *Apolant* e *Bashford* ammettono in tali casi una stimolazione di natura chimica sulle cellule del tessuto ospite; secondo *Lubarsch* il fenomeno si può spiegare, sia supponendo la preesistenza di cellule embrionali anormali; sia pensando che le cellule cancerose innestate conservino tutte le proprietà delle cellule primitive e possano dare origine tanto a epiteli che a cellule connettivali (i più ora ammettono che il nuovo tessuto neoplastico derivi da quello dell'ospite); sia colla presenza di una speciale sostanza, o di un organismo vivente, capace di stimolare gli elementi alla proliferazione.

A questo proposito cade in acconcio di osservare che nello stesso modo col quale stimoli fisici (per es. i raggi *Röntgen*) possono provocare in un tessuto la trasformazione di elementi normali in cellule neoplastiche atipiche, le quali, una volta la trasformazione avvenuta, sono capaci di seguitare a moltiplicarsi senza ulteriore intervento dello stimolo primitivo; e nello stesso modo col quale pure ciò avviene per stimoli chimici di varia natura (cancri dei lavoranti in paraffina, anilina), non è assurdo il supporre che anche speciali sostanze, prodotte da parassiti, possano dar luogo a tale atipica trasformazione cellulare, in modo da costituire il punto di partenza per lo sviluppo di una neoplasia.

In favore della ipotesi parassitaria si sono interpretati da alcuni Autori i resultati, che essi affermano di avere ottenuto, di trasmissione sperimentale di tumori dall'uomo all'animale, nei quali si ebbe lo sviluppo di neoplasmi istologicamente differenti da quello innestato. Il *Lewin*, citando le esperienze proprie e quelle di *Dagonet*, sostiene questa veduta e crede possibile che molti dei cosidetti tumori di granulazione, ottenuti in tali esperienze, fossero veri sarcomi. Fra le numerose ricerche di questo genere, la maggior parte

delle antiche, fatte senza rigorose cautele di tecnica, non sono attendibili; quelle recenti sono troppo poco numerose per poter dare ad esse grande valore; d' altra parte è noto come segnatamente alcuni animali (ratti, topi) offrano la particolarità di *reagire connettivalmente* alle cause più varie; gli stessi fattori che in altri animali dànno luogo ad infiammazioni acute banali, producono in essi delle estese proliferazioni connettivali, dei veri granulomi, che spesso hanno tutto l'aspetto istologico dei sarcomi; a questa categoria appartengono probabilmente le neoformazioni ottenute dal *Mènetrier*, inoculando nei ratti dei frammenti di epitelioma umano; le quali avevano la struttura di sarcomi, erano riproducibili per innesto, e contenevano germi banali; e quelle osservate da *Jensen*, in alcuni ratti inoculati con un bacillo acido-resistente.

Degli *argomenti* tratti dall'*osservazione istòlogica* a sostegno dell'origine parassitaria dei neoplasmi, già abbiamo tenuto parola, nè molto occorre aggiungere a quanto dicemmo; non vi è dubbio che la struttura istologica da sola non basta in alcuni casi a differenziare le neoformazioni di natura sicuramente infettiva (granulomi) da quelle neoplastiche (sarcomi), e che stimoli parassitari possono dar luogo talvolta a proliferazioni connettivali, che hanno tutte le caratteristiche istologiche dei sarcomi. In queste forme la diagnosi differenziale deve essere desunta dai caratteri biologici di atipia cellulare, più che da quelli morfologici, e cioè dalla attitudine delle cellule a moltiplicarsi illimitatamente e a diffondersi nell'organismo, dalla proprietà di emigrare, dando luogo a nuovi focolai costituiti da elementi simili a quelli del tumore primitivo, e di produrre una intossicazione, che conduce alla cachessia dell' organismo. Non vi ha dubbio che esistono, specialmente per i tumori connettivali, tutte le forme di passaggio dal granuloma ai veri neoplasmi, nè è facile nel singolo caso dire in quali la causa tossi-infettiva si possa escludere.

Vi sono però, dal punto di vista istologico, altre considerazioni da fare, le quali stanno più contro che in favore della eziologia infettiva dei tumori; per esempio, se questa è ammissibile per i tumori maligni, non lo è per quelli benigni, che, se pure possono mostrare gli stessi caratteri morfologici, non hanno quelli di rapido sviluppo, di diffusibilità e di malignità, nella patogenesi

dei quali appunto più volentieri si vorrebbe vedere l'azione di un agente specifico organizzato. Si è anche detto che, ammettendo questo agente, male si spiegherebbe il fatto che esso colpisca solo un numero limitato di cellule del tessuto, dalle quali ha poi luogo lo sviluppo unicentrico del tumore, e non infetti invece le altre similari, invadendole successivamente per contiguità. Altra difficoltà per la invocata teoria, è data dal fatto degli innumerevoli tipi di tumori, per cui alcuni vorrebbero ammettere altrettanti tipi diversi di parassiti. Obbiezione questa però che non sembra di molta importanza, nulla impedendo di ammettere che un unico agente infetti quelle cellule che, per speciali ragioni, si mostrino più recettive. In tutti casi però, dato la possibilità di un'origine parassitaria, sia che il parassita stesso provochi la trasformazione neoplastica delle cellule, sia che ciò avvenga per azione delle sue tossine, si deve concedere che le metastasi non siano prodotte dal trasporto del parassita medesimo o dei suoi prodotti attivi, ma da quello delle cellule atipiche del tumore primitivo; altrimenti non sarebbe possibile spiegare l'identità morfologica e strutturale dei tumori secondari con quello primitivo. Se le metastasi derivassero dalle cellule del tessuto in cui hanno sede, stimolate direttamente dall'agente specifico o dalle sue tossine, dovrebbero sempre conservare i caratteri di esso e si avrebbero altrettanti noduli metastatici costituiti da cellule differenti, quanti sono i tessuti o gli organi, nei quali essi si sviluppano. Questa possibilità, che le metastasi non si debbano a trasporto a distanza del parassita, è del resto perfettamente ammissibile e può trovare riscontro in quanto si verifica per azione per es. di stimoli fisico-chimici; come non è assurdo ritenere che per es. un carcinoma cutaneo, provocato dall'azione dei raggi *Röntgen* sulla cute, dia in altri organi metastasi, che sono naturalmente costituite da epitelio simile a quello cutaneo; così non vi è difficoltà a supporre che uno stimolo parassitario provochi in una sede qualunque la atipica proliferazione di cellule, che poi, trasportate a distanza, riproducano la struttura del tumore primitivo.

Ci sembra dunque di poter concludere, da quanto si è detto finora, che dal punto di vista istologico e anatomo-patologico, non vi siano motivi tali da rigettare senz'altro l'esistenza di neoplasmi a causa infettiva.

Sui *rapporti dei tumori con altre malattie infettive e parassitarie* non occorre che ci tratteniamo ulteriormente; è possibile che le affezioni tubercolari e sifilitiche costituiscano un favorevole terreno di sviluppo per le neoplasie maligne; ma per ora non è dimostrato che gli agenti di queste infezioni siano capaci di per sè di produrre tali neoplasie, per quanto per la tubercolosi, come abbiamo veduto, esistano forme morbose delle ghiandole linfatiche, che molto si avvicinano ad altre manifestazioni di carattere neoplastico; anche per la bilharziosi ci riferiamo a quanto abbiamo detto in precedenza, i tumori vescicali nei malati affetti da bilharzia, secondo alcuni sono la conseguenza della cistite cronica e non sempre hanno i caratteri delle neoplasie maligne, secondo altri dipendono direttamente dallo stimolo parassitario. La quistione non è ancora suscettibile di una risposta definitiva e mancano ricerche sperimentali capaci di farla risolvere in un senso piuttosto che nell' altro.

Detto così dei principali argomenti d' indole generale pro e contro l' esistenza di neoplasmi di origine infettiva, passiamo brevemente in rivista i dati precedentemente esposti relativi ai vari agenti specifici ritrovati e descritti nei diversi tumori, nell' intento di vedere quanto essi possano resistere ad una critica obiettiva e spassionata.

Del *bacillo di Scheuerlen* e di altri analoghi non occorre tener parola, la loro natura saprofitica, e la nessuna importanza loro nell'eziologia dei tumori, è già stata più volte dimostrata. Lo stesso può dirsi del *micrococcus di Doyen*, ad onta della strenua difesa che ne fa il suo scopritore; la descrizione delle lesioni con esso prodotte non lascia affatto convinti che si tratti di neoplasmi, e le ricerche di controllo di numerosi osservatori provano che, se questo microrganismo si incontra con una certa frequenza nei tumori, non è affatto dimostrata la sua importanza patogenetica.

Anche per gli *spirocheti* vedemmo che la maggior parte di coloro che li hanno descritti nei tumori non attribuiscono ad essi un valore eziologico, e che la loro frequenza nei ratti e nei topi deve farli ritenere un reperto puramente accidentale.

Più a lungo ci fermeremo sull' analisi dei resultati ottenuti coi *blastomiceti*. Il reperto di questi microrganismi nei tumori è

stato molto discusso; dal complesso delle osservazioni precedentemente esposte risulta che indubbiamente in molti tumori, ma non nel maggior numero, si possono dimostrare coll'esame istologico e colle culture dei blastomiceti; però fu osservato che essi si trovano molto più di frequente nei tumori ulcerati che in quelli chiusi, e in quelli esaminati qualche tempo dopo la loro estirpazione, che nei freschissimi. Alcuni ricercatori affermano recisamente che ponendosi in condizioni di esperimento tali da evitare assolutamente ogni inquinamento dall'esterno, non si riesce a coltivare blastomiceti dai tumori. In conclusione si può ritenere che la presenza di questi germi non è così costante che basti da sola ad attribuire ad essi un'importanza eziologica; ove però questa fosse dimostrata da altri fatti, non basterebbe qualche reperto negativo ad infirmarla e si potrebbe accettare la spiegazione del *Sanfelice*, secondo la quale i blastomiceti nei tumori assumerebbero la forma di corpi di *Russell* e non sarebbero più coltivabili. Gli argomenti più forti a sostegno dell'ipotesi blastomicetica derivano, secondo i suoi fautori, dalle ricerche sperimentali. Su quelle precedenti ai lavori di *Sanfelice* non occorre parlare a lungo; molti ricercatori riconoscono di non aver ottenuto veri tumori e i resultati di quelli che sostengono di averne ottenuti (*Roncali*, *Leopold*) sono assai poco numerosi e discutibili.

Relativamente alle ricerche del *Sanfelice* possiamo qui ripetere le obbiezioni fatte ad esse dal *Fichera*, dal *Veratti* e da altri, che hanno giustamente messo in luce i punti deboli della sua dottrina e delle sue esperienze. Per quanto riguarda l'isolamento dei blastomiceti dai tumori questo avvenne in condizioni tali, attraverso a passaggi negli animali in cui i parassiti si trovarono mescolati ad un gran numero di altri germi banali, che non esclude affatto la possibilità di un inquinamento dall'esterno. Gli esperimenti di inoculazione dettero da principio pochissimi resultati positivi, i quali, fu detto, potevano spiegarsi come casi di tumori spontanei nei cani; nelle esperienze successive i tumori ottenuti furono molto più numerosi, per modo che una tale spiegazione non era ammissibile.

Queste però offrono campo ad altre critiche, prima di tutto relative alla tecnica adoperata per studiare l'azione di soli prodotti solubili, valendosi di inoculazioni di emulsioni di patate, da cui era stata raschiata via la patina culturale; è molto probabile che que-

sto materiale così preparato non fosse sicuramente sterile; spesso accade, come potemmo osservare nelle esperienze che esporremo in seguito, di fare da una vecchia cultura dei trapianti, col solito metodo dello strisciamento, e di vedere che rimangono sterili, per quanto le culture si dimostrino ancora vive coll' inoculazione negli animali; non è impossibile che in frammenti di patate, che anche all'esame istologico appaiono privi di germi, possano eventualmente rimanere alcuni blastomiceti, scarsi e poco vitali, non sempre rivelabili coi semplici trapianti, ma capaci di moltiplicarsi ulteriormente nell'organismo animale. Crediamo quindi che in tutte le esperienze eseguite con questa tecnica non possa con sicurezza escludersi l' intervento di germi viventi; tanto più che non è detto che in ogni caso, sia stata fatta la ricerca dei parassiti nei tumori ottenuti; la quale del resto anche se fosse stata negativa (colle culture) non avrebbe dimostrato sicuramente che il materiale inoculato era sterile. L'ultima serie di esperienze del *Sanfelice* è quella praticata con inoculazioni di culture in mezzi liquidi; alcune furono adoperate ancora vive e per queste non è dubbia l'azione dei parassiti vivi, altre furono inoculate morte, non filtrate. Ora, a noi è accaduto più di una volta, anche per le culture vecchie in mezzi liquidi, di veder rimanere sterili alcuni trapianti fatti con gli usuali metodi, mentre si aveva moltiplicazione di germi coll' inoculazione negli animali; il fatto si ripete anche talora colle culture filtrate sulle candele *Berkefeld*; i filtrati, che dànno trapianti sterili, mostrano nell' organismo di non essere del tutto privi di germi. In questa serie di ricerche il *Sanfelice* ottenne anche tumori trapiantabili, ma, come abbiamo già fatto rilevare, non è detto se i trapianti fossero eseguiti coi tumori provocati delle culture morte o da quelli dati dalle culture vive; si capisce che in questo secondo caso si tratterebbe non di un vero trapianto, ma di una nuova infezione. Questi appunti sulla tecnica ci sembrano avere grande importanza, perchè se è vero che i materiali inoculati dal *Sanfelice* non erano privi di germi viventi, è più facile dimostrare che le neoformazioni ottenute appartengono ai granulomi e non alle vere neoplasie, e che i vari noduli di esse possono attribuirsi a localizzazioni multiple piuttosto che a metastasi. La formazione di metastasi è appunto l' argomento principale in base al quale il *San-*

felice sostiene che le neoformazioni da lui ottenute appartengono alla categoria dei tumori veri. Perchè infatti la descrizione istologica di esse non basterebbe da sola a dimostrarne la natura neoplastica; tranne i primi casi di tumori costituiti da epitelio, che, come dicemmo, sono stati ritenuti quali reperti accidentali, in tutti i successivi si tratta di tumori di natura connettiva, i quali appunto per ciò non potevano offrire caratteri differenziali molto spiccati dai granulomi e come tali si possono interpretare; si tratta sempre di cellule a tipo epitelioide o di cellule giganti variamente disposte, talvolta situate attorno ad ammassi granulosi con detriti cromatici. Spesso le formazioni nodulari sono circondate da connettivo infiltrato; per alcune l'A. stesso afferma che le lesioni presentano i caratteri di quelle infiammatorie. Anche il *Veratti* ed il *Fichera* ritengono che non si possa parlare di tumori veri, ma che si abbia che fare con una reazione infiammatoria provocata dall'azione dei blastomiceti e dei loro prodotti.

Dell'ultimo argomento del *Sanfelice*, quello della sieroterapia specifica, abbiamo già detto che è suffragato da un numero di esperienze troppo scarso, per poter essere invocato in favore della sua teoria.

Vedremo come le nostre proprie ricerche non ci abbiano dato alcun resultato che valga a confortarla e ricordiamo infine che tutte quelle già ricordate, eseguite da molti sperimentatori coi blastomiceti stessi del *Sanfelice* o con altri, hanno costantemente dato resultati negativi.

Riguardo al reperto di *altri funghi* nei tumori ed alle esperienze con essi eseguite dal *Bra*, dal *Behla* e da altri, dicemmo precedentemente come debbano ritenersi prive di qualunque importanza e non abbiano ricevuto nessuna autorevole conferma.

Relativamente ai *protozoi* possiamo fare una grande distinzione fra le osservazioni basate sui soli esami istologici e quelle appoggiate da ricerche sperimentali. Le prime, come contributo all'eziologia dei tumori, non crediamo che debbano esser prese in molta considerazione; è oramai dimostrato che svariatissime apparenze d'origine cellulare possono simulare i supposti protozoi, e la loro presenza nei neoplasmi non è stata così universalmente constatata da potere rivestire il carattere di un fenomeno costante e

necessario. Più degne di attenzione sembrano alcune fra le ricerche sperimentali; quelle di *Bosc*, di *Sjöbring*, come vedemmo, non furono confermate, il parassita di *Schüller* è stato pure molto discusso, e l'A. stesso non afferma di aver riprodotto con esso veri tumori; maggior interesse invece offrono gli esperimenti di *Schmidt*, il quale avrebbe riprodotto dei neoplasmi veri, e se è ancora incerta la natura del parassita da lui scoperto, non vi è dubbio che i suoi tentativi meritano di essere più ampiamente controllati; senza di che la ipotesi che i parassiti dei tumori appartengano ai protozoi, non sembra fino ad ora più fondata delle altre, che vogliono attribuirli ad altre specie di microrganismi.

Sulle recenti vedute del *Borrel*, relative all'importanza dei *vermi* e degli *acari*, possiamo ripetere quanto dicemmo riferendo le osservazioni su questo argomento; sarebbe ora prematuro voler fare qualunque ipotesi al riguardo perchè troppo scarse sono le ricerche in proposito; accanto ai pochi casi favorevoli di *Borrel* e di altri, stanno le statistiche contrarie di *Kelling* e le ricerche di *Tsunoda*, e non è possibile ancora trarre da tutto ciò alcuna conclusione definitiva.

Ricerche personali [1].

La parte sperimentale del presente lavoro comprende da un lato le ricerche dirette ad isolare i blastomiceti dai tumori; dall'altro quelle di inoculazione dei blastomiceti stessi negli animali.

Nelle ricerche batteriologiche sui tumori abbiamo creduto opportuno di dare più importanza ai tentativi di coltivazione dei parassiti, dei quali si voleva studiare l'azione patogena, che alla loro dimostrazione microscopica coi metodi istologici, perchè, come abbiamo veduto, a questa si deve attribuire un valore assai relativo, considerando quanto facilmente formazioni di origine cellulare e di varia natura possano assumere l'aspetto morfologico di elementi parassitari. Nostro compito quindi è stato quello di cercare di isolare dai tumori i blastomiceti, ponendoci nelle migliori condizioni di tecnica, atte a diminuire le probabilità di eventuali inquina-

[1] Una parte di queste esperienze venne comunicata all'Accademia Medico-fisica fiorentina nella Seduta del 22 giugno 1910.

menti, ed allestendo le culture sui terreni più adatti allo sviluppo di questi microrganismi.

Per le esperienze di inoculazione ci siamo serviti dei ceppi da noi isolati e del Saccharomyces Neoformans del *Sanfelice* (1); abbiamo praticato inoculazioni con parassiti, vivi o morti, con culture intere, sviluppate su vari terreni, pure vive o morte, con filtrati di culture, ecc., con diverse modalità tecniche, che diremo in seguito. Gli animali da esperimento furono cani, cavie, ratti bianchi, conigli ed una scimmia. Esporremo la tecnica adoperata in queste esperienze ed i resultati ottenuti, facendoli seguire da alcune considerazioni sulla loro interpretazione, e paragonandoli con quelli delle ricerche analoghe dei precedenti osservatori. Infine riassumeremo in poche parole quanto ci sembra di poter dedurre dai dati della letteratura, che già abbiamo riferiti e discussi, e dalle nostre personali esperienze, relativamente al problema propostoci dell'esistenza di neoplasmi di origine infettiva.

Coltivazione dei blastomiceti dai tumori.

I tumori esaminati erano quasi tutti estirpati con atto operativo e freschissimi, alcuni conservati per poche ore, dopo l'operazione, involti in garza sterilizzata; raramente tolti dal cadavere all'atto della necroscopia.

Tecnica. — Sterilizzazione della superficie del tumore con ferro rovente; taglio con strumenti sterilizzati; asportazione di frammenti e diretta introduzione di essi nei tubi di cultura. Talvolta triturazione dei frammenti con soluzione fisiologica sterilizzata in mortaio sterile e allestimento di piastre di agar dal liquido così ottenuto.

Terreni di cultura: agar, brodo, gelatina leggermente acidi e glucosati; brodo ed agar con aggiunta di succo di patate, pure acidi e glucosati.

I tumori (2) esaminati furono 34, dei quali 17 cancri della mammella, 6 tumori epiteliali di altri organi, 6 sarcomi e 5 tu-

(1) Un ceppo di questo ci fu favorito gentilmente dal Prof. *Sclavo*, un altro dal Prof. *Sanfelice* stesso.

(2) Il materiale per queste ricerche ci fu gentilmente favorito dal prof. *Burci* e dal prof. *Stori*.

mori del cane, dei quali 3 connettivali e 2 epiteliali. In alcuni fu dimostrata la presenza di corpi di *Russell* coll'esame istologico. Nel minor numero dei casi i terreni di cultura rimasero sterili, per lo più invece si ebbe sviluppo di germi banali (cocchi e bacilli). In due casi si ottennero rare colonie di blastomiceti nelle piastre di agar, insieme con molti altri microrganismi dell'aria e con muffe; queste piastre erano state ripetutamente aperte per l'esame nei giorni precedenti. I blastomiceti così isolati, che per comodità abbiamo indicato coi N. 1 e 2, davano sui terreni di cultura una patina bianca splendente e si dimostrarono patogeni per le cavie solo a dosi molto forti ed in maniera incostante; per questo e perchè essi si erano sviluppati con molta probabilità in seguito ad inquinamento accidentale, non abbiamo creduto di procedere con essi ad ulteriori esperienze. In altri due casi fu osservato lo sviluppo di colonie di blastomiceti in condizioni migliori di esperimento e tali da fare ritenere meno probabile un eventuale inquinamento dall'esterno. Nel primo si trattava di una ghiandola linfatica con ripetizioni neoplastiche di un cancro sviluppatosi nella mammella di un uomo; il tumore primitivo aveva presentato una piccola ulcerazione. Il tumore e la ghiandola furono tolti con atto operativo. In due, sopra quattro, tubi di brodo acido glucosato, innestati direttamente con frammenti di tessuto, prelevati sterilmente nel centro della ghiandola linfatica, si osservò, dopo sette giorni, la presenza di blastomiceti, che facilmente si poterono isolare da qualche altro germe che li accompagnava. Questo blastomicete fu indicato col n. 3 e si dimostrò costantemente patogeno.

Un altro blastomicete si potè isolare da un cancro della mammella di una donna, pure estirpato dal vivente, nel quale coll'esame istologico si vedevano i corpi di *Russell;* in una delle piastre di agar fatte dal tumore, che non era mai stata aperta prima e non sembrava aver subìto inquinamenti dall'esterno, si trovarono alcune singole colonie di blastomiceti e poche altre di germi banali. Anche questo microrganismo, che venne indicato col n. 4, dimostrò spiccate proprietà patogene per gli animali.

Non crediamo necessario fermarci a lungo sui caratteri morfologici e culturali di questi microrganismi, sembrandoci più interessante invece studiarne l'azione patogena negli animali. Diremo

solo che essi si presentano a fresco come corpi rotondeggianti, di volume variabile, con doppio contorno assai rifrangente, a contenuto omogeneo, trasparente; nell' interno si vedono dei granuli molto rifrangenti e spesso una grossa formazione coll' aspetto di un vacuolo; i caratteri morfologici mostrano notevoli variazioni, specialmente nelle culture giovani ed anche più nell' organismo: si possono avere forme molto grandi o molto piccole, altre circondate da un largo alone omogeneo (nei tessuti), oppure ovali, allungate, e perfino a bastoncello, e forme in via di gemmazione.

La loro colorazione avviene intensamente coi comuni colori di anilina, col metodo di *Gram* ed anche coll' ematossilina.

Le culture di questi germi non presentano speciali caratteristiche, si ottengono facilmente in tutti i comuni terreni, e meglio in quelli glucosati e leggermente acidi, a temperatura ambiente e più rapidamente a 25°-30° C. Il brodo è intorbidato e poi si chiarifica per formazione di un sedimento polverulento; la gelatina non è fluidificata; sull'agar si hanno colonie rotonde, rilevate, o patine spesse, bianco-sporche, che invecchiando si fanno giallastre e poi sempre più scure, fino a brune; sulle patate e sui terreni preparati col loro succo, si ha uno sviluppo molto rigoglioso. Le culture su mezzi solidi si mantengono vive per molti mesi.

Per i loro caratteri morfologici e culturali i due ceppi di blastomiceti da noi isolati si presentano molto simili tra loro e a quello del *Sanfelice*; alcune lievi differenze rilevabili talvolta nel volume delle singole cellule e nell' aspetto delle culture, non costituiscono dei caratteri così spiccati e costanti da permettere una netta distinzione fra questi tre ceppi di blastomiceti.

Esperienze di inoculazione negli animali.

Le esperienze di inoculazione negli animali furono eseguite coi blastomiceti N. 3 e 4 e con quello di *Sanfelice;* siccome i resultati ottenuti con questi tre ceppi non hanno mostrato notevoli differenze, dopo avere riferite le varie serie di ricerche sperimentali ad essi relative, quali appaiono dai protocolli, li esporremo complessivamente per poter meglio valutare il loro significato, in riguardo al problema dell' origine infettiva dei neoplasmi.

Delle singole esperienze indicheremo prima le modalità tecniche e poi riporteremo per ogni animale i dati più importanti relativi all'inoculazione e al reperto anatomo-patologico.

Gli animali da esperimento inoculati furono le cavie, i ratti e i cani, alcune inoculazioni praticate nei conigli dimostrarono che essi pure sono sensibili all'infezione blastomicetica, ma la frequenza colla quale tali animali ammalano di coccidiosi, le cui lesioni istologiche potrebbero simulare delle proliferazioni cellulari, eventualmente di origine blastomicetica, ci indussero a non usare i conigli come animali da esperimento. Anche una scimmia (Macaco) fu inoculata nel tessuto sottocutaneo della regione pettorale, con $^1/_{10}$ di ansa di cultura fresca in agar acido glucosato del blastomicete 3; l'animale presentò un ascesso che si aprì spontaneamente e guarì senza lasciar traccia; il pus dell'ascesso conteneva blastomiceti. La scimmia non ebbe mai nessun disturbo; altre due inoculazioni, praticate a distanza di alcuni mesi, col Sacch. neoformans, nel peritoneo, rimasero senza effetto.

1. Inoculazione colle culture vive.

Queste inoculazioni si fecero con dosi varie di cultura in agar acido glucosato, di varia età, alcune nella cavità peritoneale, altre nel tessuto sottocutaneo.

A. *Blastomicete 3.*

1. Cavia 39, $^1/_{10}$ ansa, cultura fresca, peritoneo, † 5 giorni. Culture positive dal peritoneo. Iperemie, emorragie, degenerazioni.
2. Cavia 40, $^2/_{10}$ ansa, cultura fresca, peritoneo, † 20 giorni. Culture positive dal peritoneo e sangue. Blastomicosi diffusa degli organi. Iperemie, emorragie, degenerazioni, desquamazione endoteliale nelle ghiandole linfatiche.
3. Cavia 63, $^1/_4$ ansa, cultura di 15 g., peritoneo, † 1 mese. Culture positive dal peritoneo. Pseudotumore dell'epiploon. Blastomicosi diffusa. Iperemia, emorragie e degenerazioni nei vari organi.
4. Cavia 64, come la precedente, † 20 giorni. Reperto analogo alla precedente.
5. Cavia 65, $^1/_8$ ansa. Come la precedente, † 14 giorni. Culture positive dal peritoneo e dal sangue. Broncopolmonite.

6. Cavia 66, $^1/_4$ ansa, come la precedente e con reperto analogo.
7. Cavia 81, $^1/_4$ ansa, cultura fresca, sottocute, † 4 mesi. Culture sterili. Iperemia, emorragie, degenerazioni, desquamazione endoteliale nelle ghiandole linfatiche.
8. Cavia 82, come la precedente, † 5 $^1/_2$ mesi. Morte per torsione intestinale. Trasformazione puriforme delle ghiandole linfatiche inguinali di un lato (culture dal pus sterili). Desquamazione endoteliale nelle ghiandole linfatiche.
9. Cavia 83, come la precedente. † 50 giorni. Reperto analogo alla precedente.
10. Cavia 84, $^1/_4$ ansa, cultura fresca, peritoneo, † 5 $^1/_2$ mesi. Culture negative. Fatti di sclerosi nel rene, milza, alcune gh. linfatiche, tratto intestinale. Iperemia ed emorragie polmonari e renali. Desquamazione endoteliale nelle gh. linfatiche mesenteriche.
11. Cavia 85, come la precedente, † 5 mesi. Reperto analogo alla precedente.
12. Cavia 86, come la precedente, † 1 mese. Culture positive dal peritoneo e dal sangue. Pseudotumore dell' epiploon e blastomicosi a focolai diffusi in tutti gli organi e nel connettivo sottocutaneo.
13. Cavia 182, 3 anse, cultura fresca, peritoneo, † 22 giorni. Culture positive dal peritoneo e dal sangue. Pseudotumore dell' epiploon, blastomicosi diffusa.

1. Ratto 29, $^1/_4$ ansa, cultura fresca, peritoneo, † 15 giorni. Si possono esaminare solo i reni. Iperemia, emorragie, degenerazioni.
2. Ratto 30, come il precedente, † 14 giorni. Culture positive dal peritoneo. Noduli nell' epiploon e sulla superficie del fegato.
3. Ratto 31, come il precedente, † 1 mese. Culture positive dal sangue e dal testicolo destro, che è tumefatto e infiltrato di blastomiceti. Nulla di notevole negli altri organi.
4. Ratto 32, come il precedente, † 1 $^1/_2$ mesi. Solo fatti iperemici, emorragie e degenerazioni.
5. Ratto 62, $^1/_{10}$ ansa, cultura fresca, peritoneo, † 4 giorni. Reperto negativo.
6. Ratto 63, come il precedente, † 9 giorni. Cultura positiva dal peritoneo. Nodulini nell' epiploon (granulomi).
7. Ratto 64, come il precedente, † 27 giorni. Culture sterili. Noduli nell' epiploon e nel fegato (granulomi).
8. Ratto 65, come il precedente, † 1 mese. Culture sterili. Raccolta

d' aspetto caseoso sottocute, nel punto d'iniezione, costituita da residui di blastomiceti, detrito, e tessuto di granulazione. Noduli nell'epiploon (residui di blastomiceti, tessuto di granulazione). Ispessimento della capsula splenica.

1. Cane 15, 1 ansa, cultura 15 g., peritoneo, † 1 mese. Cultura positiva dal peritoneo. Broncopolmonite, degenerazioni negli organi.
2. Cane 16, $^1/_2$ ansa, cultura fresca, peritoneo, † 4 $^1/_2$ mesi. Culture negative. Fatti di degenerazione e di sclerosi negli organi.

B. *Blastomicete 4.*

1. Cavia 53, $^1/_4$ ansa, cultura di 13 g., peritoneo, † 19 giorni. Culture positive dal peritoneo e sangue. Pseudotumore dell' epiploon; blastomicosi diffusa, iperemia e degenerazioni negli organi.
2. Cavia 54, come la precedente, † 15 giorni. Reperto come la precedente.
3. Cavia 55, come la precedente, † 4 mesi circa. Culture positive dal peritoneo. Noduli peritoneali e nelle gh. linfatiche, costituiti da blastomiceti circondati da connettivo.
4. Cavia 56, come la precedente, † 13 giorni. Culture positive dal peritoneo e sangue. Pseudotumore dell' epiploon, blastomicosi diffusa, iperemia e degenerazioni negli organi.
5. Cavia 87, 1 ansa, cultura di 4 g., sottocute, † 5 $^1/_2$ mesi. Culture sterili. Trasformazione puriforme di una gh. linfatica inguinale. Sclerosi della milza, degenerazione degli organi. Desquamazione endoteliale in alcune gh. linfatiche.
6. Cavia 88, come la precedente, † 5 mesi circa. Culture sterili. Fatti di sclerosi e degenerazione negli organi.
7. Cavia 89, come la precedente, † 1 $^1/_2$ mesi. Culture positive dal sangue e dal punto d' iniezione; in questo, nodulo puriforme contenente blastomiceti; blastomiceti nei polmoni, gh. linfatiche, pancreas.
8. Cavia 90, 1 ansa, cultura di 7 g., peritoneo, † 26 giorni. Culture positive dal peritoneo e sangue. Pseudotumore dell'epiploon, blastomicosi diffusa degli organi.
9. Cavia 91, come la precedente, † 12 giorni. Culture positive dal peritoneo e dal sangue. Pseudotumore dell' epiploon. Blastomicosi diffusa degli organi.
10. Cavia 92, come la precedente, † 2 mesi. Culture positive dal peritoneo e testicoli. Pseudotumore dell'epiploon. Blastomicosi dei testicoli (pus e parassiti). Emorragie e degenerazioni negli organi.

1. Ratto 25, $^1/_4$ ansa, cultura di 2 g., peritoneo, † 2 mesi circa. Culture sterili. Nodulini dell'epiploon, costituiti di connettivo fibrillare e cellule epitelioidi con residui di blastomiceti (granulomi). Nel piccolo bacino nodulo contenente blastomiceti e detrito, a parete connettivale e di tessuto di granulazione. Emorragie, degenerazioni negli organi.
2. Ratto 26, come il precedente. Nel polmone alcune emorragie interstiziali e un nodulino di cellule epitelioidi.
3. Ratto 27, come il precedente. 3 nodulini gialli nel peritoneo, contenenti blastomiceti scolorati in una trama di connettivo ricco di nuclei; qualche focolaio di detrito granuloso, attorno connettivo fibrillare. Qualche emorragia polmonare.
4. Ratto 28, come il precedente. Reperto analogo al precedente, più scarsa la proliferazione connettivale dell' epiploon attorno ai residui di blastomiceti.

1. Cane 15, 1 ansa, cultura di 5 g., peritoneo, † 4 mesi. Culture negative. Fatti di sclerosi e di degenerazione nei vari organi.
2. Cane 17, 2 anse, cultura di 4 g., peritoneo, † 7 mesi circa. Culture negative. Reperto analogo al precedente.

C. *Saccharomyces Neoformans.*

1. Cavia 6, 1 cultura di 2 g., peritoneo, † 2 mesi. Culture negative. Pseudotumore dell'epiploon. Blastomiceti nei reni, desquamazione degli endoteli nelle gh. linfatiche.
2. Cavia 14, $^1/_3$ cultura fresca, sottocute, † 5 giorni. Culture positive dal sangue. Fatti iperemici e degenerativi.
3. Cavia 15, come la precedente, † 3 giorni. Culture negative. Reperto analogo alla precedente.
4. Cavia 16, come la precedente, † 4 giorni. Culture positive. Reperto analogo alla precedente.
5. Cavia 28, 2 anse, cultura di 1 mese, sottocute, † 25 giorni. Culture positive dal sangue. Ulcera nel punto di iniezione, a fondo granulante, con blastomiceti. Blastomicosi diffusa degli organi. Emorragie e degenerazioni negli organi; desquamazione endoteliale nelle gh. linfatiche.
6. Cavia 29, come la precedente, † 8 $^1/_2$ mesi. Culture negative. Cicatrice da pregressa ulcera nel punto d' iniezione. Trasformazione puriforme di alcune gh. linfatiche inguinali, contenenti blastomiceti. Fatti emorragici, degenerativi e di sclerosi negli organi.

7. Cavia 30, come la precedente, † 18 giorni. Culture positive dal peritoneo e sangue. Blastomicosi diffusa degli organi.
8. Cavia 31, 1 ansa, cultura di 1 mese, peritoneo, † 10 giorni. Culture positive dal peritoneo e dal sangue. Blastomicosi diffusa degli organi.
9. Cavia 68, 6 anse, cultura di 10 g., peritoneo, † 16 giorni. Cultura positiva dal peritoneo e sangue. Pseudotumore dell'epiploon. Blastomicosi diffusa. Emorragie, degenerazioni degli organi.
10. Cavia 69, 4 anse, cultura di 10 g., peritoneo, † 20 giorni. Culture positive dal peritoneo e sangue. Pseudotumore dell'epiploon. Focolai blastomicetici nel connettivo sottocutaneo, polmone, milza, gh. linfatiche. Emorragie, degenerazioni.
11. Cavia 70, come la precedente, † 8 giorni. Culture positive dal peritoneo. Emorragie, degenerazioni.
12. Cavia 76, 4 anse, cultura di 50 g., peritoneo, † 1 mese. Culture positive dal peritoneo e sangue. Tumefazione delle gh. linfatiche. Blastomicosi viscerale diffusa.
13. Cavia 77, come la precedente, † 21 giorni. Culture positive dal peritoneo e sangue. Blastomicosi viscerale diffusa con focolai nell'epiploon e nel connettivo sottocutaneo. Emorragie, degenerazioni.
14. Cavia 78, come la precedente, † 6 mesi circa. Culture sterili. Trasformazione puriforme di alcune gh. linfatiche al pube, con blastomiceti. Emorragie e degenerazioni negli organi.
15. Cavia 79, come la precedente, † 9 giorni. Culture positive dal peritoneo e dal sangue. Blastomiceti nell'epiploon e polmoni. Emorragie e degenerazione negli organi.
16. Cavia 80, come la precedente, † 14 giorni. Reperto analogo alla precedente.
17. Cavia 149, $^1/_4$ ansa, cultura di 3 g., peritoneo, † 1 giorno. Occlusione intestinale. Culture positive dal peritoneo.
18. Cavia 150, come la precedente, † 1 $^1/_2$ mesi. Culture sterili. Fatti degenerativi.
19. Cavia 151, come la precedente, † 26 giorni. Reperto analogo alla precedente.
20. Cavia 152, come la precedente, sottocute, † 8 giorni. Culture sterili. Fatti degenerativi.
21. Cavia 153, come la precedente, † 1 mese. Culture dal sangue sterili. Ulcera nel punto d'iniezione. Iperemie e degenerazioni.
22. Cavia 154, come la precedente, † 4 giorni. Culture dal sangue sterili. Congestione viscerale diffusa.

23. Cavia 176, $^1/_{10}$ ansa, cultura di 2 g., peritoneo, † 2 giorni. Culture positive dal peritoneo. Un focolaio di polmonite.
24. Cavia 177, come la precedente, † 14 giorni. Culture positive dal peritoneo. Peritonite sierosa. Iperemie, degenerazioni negli organi.
25. Cavia 178, come la precedente, † 1 mese circa. Culture sterili. Iperemia e degenerazioni negli organi.

1. Ratto 1, 1 cultura di 1 g., peritoneo, † 3 giorni. Culture positive dal peritoneo e sangue. Blastomicosi diffusa.
2. Ratto 2, 2 anse, cultura di 4 g., sottocute, † 9 $^1/_2$ mesi. Grosso ascesso nella loggia renale destra, altri piccoli nei reni e nei polmoni; si isola un bacillo. Culture per i blastomiceti negative.
3. Ratto 3, come il precedente, † 1 anno. Ha presentato un' ulcera, che è guarita, nel punto d'iniezione. Trasformazione in masse gialle, quasi caseose, del lobo superiore del polmone destro e inferiore e medio del sinistro; si isola lo stesso bacillo che nel ratto precedente. Culture per i blastomiceti negative.
4. Ratto 73, $^1/_4$ ansa, cultura di 2 giorni, peritoneo, † 50 giorni. Culture sterili. Fatti di degenerazione negli organi.
5. Ratto 74, come il precedente, ucciso dopo 2 $^1/_2$ mesi circa, non presenta nulla di notevole.

1. Cane 18, 2 anse, cultura di 3 giorni, peritoneo, † 3 mesi. Culture sterili. Fatti di sclerosi e di degenerazione negli organi.

Da questa serie di esperienze è risultato che le culture vive dei tre blastomiceti adoperati sono patogene per le cavie, per i ratti, e per i cani. In questi animali si ha sempre una fortissima perdita di peso (non si sono riportate le cifre del peso per brevità) e una cachessia progressiva, talvolta accompagnata da fatti di distrofia cutanea (perdita del pelo, escoriazioni ecc.), i quali sono spiccati specialmente nei cani; essi spesso si riducono a veri scheletri, spelati, colla cute escoriata in più punti e presentano anche congiuntivite. Le cavie muoiono per blastomicosi diffusa a tutti gli organi, oppure localizzata nel punto d' iniezione e nelle ghiandole linfatiche vicine. Oltre le lesioni istologiche dovute alla presenza dei parassiti, delle quali diremo in seguito, si hanno sempre fenomeni di iperemia, emorragie e degenerazioni negli organi e fatti di sclerosi nei casi in cui l'infezione dura più a lungo. Molto spesso si ha la

produzione di pseudotumori nell'epiploon, i quali sono dovuti ad un' enorme moltiplicazione dei parassiti che infiltrano il tessuto epiploico; un' altra alterazione assai costante è la desquamazione degli endoteli di rivestimento nei seni delle ghiandole linfatiche.

Dei ratti alcuni sono morti in cachessia, senza che si potessero ritrovare in essi i parassiti, altri hanno presentato piccoli noduli nel peritoneo e talora nei visceri, colla struttura che descriveremo in seguito; raramente si è avuto il quadro della blastomicosi diffusa.

I cani sono morti sempre in preda a cachessia; in un caso si son potuti ricoltivare i parassiti del peritoneo, tutti gli altri mostrarono semplicemente fatti di degenerazione e di sclerosi degli organi.

2. Inoculazione coi blastomiceti vivi insieme coi loro prodotti solubili

Saccharomyces Neoformans.

Questa serie di esperienze fu eseguita solo col *Saccharomyces Neoformans,* nell'intento di studiare l'azione combinata dei parassiti viventi insieme con quella dei loro prodotti, elaborati nei terreni di cultura; in queste condizioni sperimentali, secondo le ricerche del *Sanfelice*, prevale sullo sviluppo e la moltiplicazione dei microrganismi in seno ai tessuti, la reazione di questi alle sostanze tossiche di origine blastomicetica e la proliferazione degli elementi cellulari. La tecnica usata per tali esperienze fu la inoculazione di emulsioni in soluzione fisiologica di frammenti di patata, su cui si erano sviluppati per lungo tempo i blastomiceti, triturati insieme colla patina culturale stessa. Inoltre includiamo in questa serie anche alcuni animali che vennero inoculati con un filtrato di vecchia cultura in brodo acido glucosato con succo di patate, il quale successivamente si riconobbe che non era sterile, forse per difetto della candela *Berkefeld*, usata per la filtrazione. Tanto detta cultura come le precedenti su patate erano vive. A questo proposito ricordiamo quanto già dicemmo nella prima parte del lavoro, che più di una volta ci accadde di trovare filtrati, oppure culture molto vecchie, che sembravano sterili o morte ai primi trapianti di controllo e che poi con ricerche più accurate e ripetute o con l'inoculazione negli animali, risultarono contenere ancora dei germi viventi.

Anche in queste esperienze le inoculazioni si fecero nel peritoneo o nel tessuto sottocutaneo e nel testicolo e nelle mammelle.

I. Emulsione di cultura su patata.

1. Cavia 23, emulsione di cultura su patata di 42 g., sottocute, † 25 giorni. Culture positive dal punto d'innesto e dalle gh. linfatiche vicine. Ulcera nel punto d'innesto. Trasformazione puriforme delle gh. linfatiche vicine. Iperemia, emorragie e degenerazioni negli organi.
2. Cavia 24, come la precedente, † 8 mesi, Cicatrice di ulcera guarita spontaneamente, nel punto d'iniezione. Trasformazione puriforme delle gh. linfatiche vicine, che contengono blastomiceti (culture sterili). Iperemia e degenerazioni negli organi.
3. Cavia 25, come la precedente, peritoneo, † 8 giorni. Culture positive dal peritoneo. Emorragie e degenerazioni degli organi.
4. Cavia 26, come la precedente, † 20 giorni. Reperto analogo alla precedente.
5. Cavia 27, come la precedente, † 8 giorni. Culture negative, reperto analogo alla precedente.
6. Cavia 32, emulsione di cultura su patata di 48 g. sottocute, † 6 $^1/_2$ mesi. Culture negative. Nodulo puriforme nel punto di iniezione, contenente blastomiceti. Iperemia, emorragie e degenerazioni negli organi; desquamazione degli endoteli nelle gh. linfatiche.
7. Cavia 33, come la precedente, † 12 giorni. Culture: un cocco (infezione accidentale?). Infiltrazione di blastomiceti nel punto d'iniezione. Focolai di infiltrazione e degenerazioni negli organi.
8. Cavia 34, come la precedente, † 13 giorni. Nodulo contenente blastomiceti nel punto d'iniezione. Iperemia e degenerazioni negli organi, desquamazione endoteliale nelle gh. linfatiche.
9. Cavia 41, emulsione diluita di cultura su patata di 65 g., peritoneo, † 3 giorni. Culture negative. Iperemie e degenerazioni degli organi.
10. Cavia 42, come la precedente, † 19 giorni, Culture positive dal peritoneo. Modico pseudotumore dell'epiploon. Blastomiceti nel polmone e gh. linfatiche mesenteriche. Iperemie, emorragie, degenerazioni negli organi.
11. Cavia 43, come la precedente, † 1 $^1/_2$ mesi. Culture positive dal peritoneo e sangue. Modico pseudotumore dell'epiploon. Blastomicosi viscerale diffusa.

12. Cavia 44, come la precedente, † 23 giorni. Culture positive dal peritoneo e sangue. Pseudotumore dell'epiploon. Blastomicosi viscerale diffusa.
13. Cavia 45, come la precedente, † 4 giorni. Culture positive dal peritoneo. Iperemie e degenerazioni negli organi.
14. Cavia 46, come la precedente, † 1 mese circa. Culture positive dal peritoneo e sangue. Pseudotumore dell'epiploon. Blastomicosi viscerale diffusa.
15. Cavie 47, come la precedente. Reperto analogo alla precedente.
16. Cavia 48, come la precedente, con reperto analogo.

1. Ratto 13, emulsione di cultura su patata di 52 g., sottocute, † 5 mesi. Nodulo e poi ulcerazione, che guarì spontaneamente, nel punto d'innesto. Culture negative. Zone emorragiche e d'infiltrazione nel polmone, rarissimi residui di blastomiceti. Nel fegato tipici granulomi con residui di blastomiceti. Fatti degenerativi negli altri organi.
2. Ratto 14, come il precedente. † 3 $^1/_2$ mesi. Culture sterili. Ulcerazione nel punto d'iniezione. Nei polmoni formazioni granulomatose attorno a residui di blastomiceti, altre in vicinanza della milza e del pancreas. Degenerazioni negli altri organi.
3. Ratto 15, come il precedente, peritoneo, † 3 mesi. Culture sterili. Nel polmone noduli di cellule epitelioidi e giganti (granulomi) contenenti blastomiceti per lo più alterati. Degenerazioni negli organi.
4. Ratto 16, come il precedente, † 3 $^1/_2$ mesi circa. Culture sterili. Nel polmone emorragie, ispessimento dei setti, noduli epitelioidi contenenti blastomiceti. Qualche raro nodulo simile anche nel fegato, nella milza, nel rene e nelle ghiandole linfatiche.

1. Cane 2, emulsione di cultura su patata di 42 g., sottocute del pene; ucciso dopo 8 mesi. Ha presentato una transitoria infiltrazione nel punto d'iniezione. Fatti di distrofia cutanea. Fatti di sclerosi e degenerazione negli organi.
2. Cane 3, emulsione di cultura su patata di 48 g., sottocute del pene; ucciso dopo 6 mesi. Si è avuta formazione di ascesso nel punto d'iniezione, guarigione spontanea. Nulla di notevole a carico degli organi.
3. Cane 4, emulsione di cultura su patata di 54 g., nel peritoneo, † 5 mesi. Cachessia grave. Broncopolmonite. Lieve sclerosi e forte desquamazione endoteliale nelle gh. linfatiche mesenteriche. Degenerazioni e sclerosi degli altri organi.

4. Cane 6, emulsione di cultura su patata di 56 g., nel testicolo sinistro, † 25 giorni. Orchite purulenta sinistra da blastomiceti; focolai di broncopolmonite, degenerazioni negli altri organi.
5. Cane 7, come il precedente, peritoneo, † 4 mesi circa. Broncopolmonite. Degenerazioni negli organi.
6. Cane 8, come il precedente, sottocute, † 3 mesi. Ulcera guarita spontaneamente, nel punto d'iniezione. Cachessia. Fatti di degenerazione negli organi.
7. Cane 9, come il precedente, † 4 $^1/_2$ mesi. Infiltrazione e piccola ulcerazione nel punto d'iniezione; guarigione spontanea. Broncopolmonite. Degenerazioni negli organi.
8. Cane 10, come il precedente, † 3 mesi circa. Infiltrazione transitoria nel punto d'iniezione. Cachessia. Piccoli focolai polmonitici. Degenerazioni negli organi.
9. Cane 11, come il precedente, † 2 $^1/_2$ mesi. Tumefazione e piccola ulcerazione nel punto d'iniezione; guarigione spontanea. Deperimento. Degenerazioni negli organi.
10. Cane 12, come il precedente, † 2 mesi. Infiltrazione transitoria nel punto d'iniezione. Broncopolmonite diffusa.

II. Filtrati non sterili di brodo-culture.

1. Cavia 35, 1 cc. filtrato cultura 1 mese, peritoneo, † 40 giorni. Culture positive dal peritoneo. Pseudotumore dell'epiploon e blastomicosi diffusa.
2. Cavia 36, come la precedente, sottocute, † 2 $^1/_2$ mesi. Trasformazione puriforme di una gh. linfatica inguinale (culture posisitive); blastomiceti nei polmoni. Iperemia e degenerazioni negli altri organi.
3. Cavia 37, 2 cc. come la precedente, † 2 mesi circa. Trasformazione puriforme di una gh. linfatica inguinale (cultura positiva); modico pseudotumore dell'epiploon. Blastomicosi diffusa viscerale.
4. Cavia 38, 2 cc. come la precedente, peritoneo, † 7 giorni. Culture negative. Iperemia, emorragie e degenerazioni negli organi.
5. Cavia 49, 1 cc. filtrato cultura 2 mesi, peritoneo, † 3 $^1/_2$ mesi. Culture sterili. Versamento siero-ematico nella pleura e peritoneo. Fatti di degenerazione degli organi.
6. Cavia 50, come la precedente, † 6 giorni. Culture positive dal sangue. Iperemie e degenerazioni degli organi.

7. Cavia 51, 0,5 cc. come la precedente, † 6 giorni. Culture negative. Reperto analogo alla precedente.
8. Cavia 52, come la precedente, † 11 giorni. Come la precedente.

Aggiungiamo qui i dati relativi a 3 cani che furono sottoposti a ripetute inoculazioni di filtrati e di culture vive e morte.

1. Cane 1 (femmina); nello spazio di 4 mesi, 10 iniezioni a dose crescente di filtrato sterile di cultura di blastomiceti in brodo di patate; dopo 1 mese, iniezione di 1 cc. della stessa cultura viva; nei 4 mesi successivi 2 iniezioni di culture vecchie intere, morte. Tutte le iniezioni furono fatte nella regione mammaria. Si trovò morto dopo 10 mesi dalla prima inoculazione; ucciso da altri cani e in parte sbranato; presentava solo una tumefazione per iperplasia delle gh. linfatiche del pube; null'altro di notevole.
2. Cane 5, (femmina); emulsione di cultura su patata di 56 g., in una mammella; si ebbe un'indurimento transitorio; dopo 8 mesi inoculazione di una cultura vecchia intera, in brodo di patate, morta; altra simile dopo circa 1 mese. Fu ucciso 11 mesi dopo la prima inoculazione; presentava lievi fatti di distrofia cutanea e di iperplasia delle gh. linfatiche del pube; nulla di notevole nelle mammelle o in altri organi.
3. Cane 14, nello spazio di 3 mesi 4 inoculazioni sottocutanee, a dosi crescenti, di filtrato sterile di vecchia cultura in brodo di patate; un mese dopo, iniezione di $^1/_2$ cc. della stessa cultura viva. Fatti di distrofia cutanea, deperimento. Dopo altri 5 mesi, iniezione di 1 cc. di cultura vecchia morta. Il cane si rimette discretamente. Ucciso 12 mesi dopo la prima iniezione non presenta altro che una ipertrofia della gh. linfatiche periferiche.

Da questa serie di esperienze risulta che l'inoculazione di blastomiceti insieme col terreno (patate) sul quale hanno vegetato, e che contiene i loro prodotti solubili, dà luogo talvolta a morte entro pochi giorni, senza localizzazioni parassitarie, con alterazioni specialmente a carico del sistema vasale (iperemie ed emorragie) e con degenerazioni cellulari diffuse a tutti gli organi. In questi casi si deve ammettere che la morte sia dovuta ad intossicazione da prodotti dei blastomiceti, e ciò, come vedremo, è confermato dai risultati delle inoculazioni di filtrati privi di germi. Altre volte si ha

sviluppo di microrganismi nell' animale e l'infezione può essere locale o generale, presentando un quadro morboso identico a quello provocato dalle semplici iniezioni di culture vive. Nei ratti si sono avute manifestazioni localizzate in vari organi, a tipo granulomatoso, contenenti blastomiceti, per quanto alterati e non coltivabili, e paragonabili perfettamente a quelle ottenute colla inoculazione di soli germi viventi. Nei cani si sono osservate talvolta manifestazioni locali nel punto d'iniezione, consistenti i fatti flogistici acuti (infiltrazioni, formazione di ascesso, suppurazione del testicolo); nessun fenomeno di proliferazione cellulare, neppure negli animali vissuti a lungo; i disturbi generali erano dati da cachessia, distrofia cutanea, degenerazioni parenchimali. La frequenza della broncopolmonite, come causa di morte, è probabilmente da attribuirsi al fatto che molti di questi animali erano stati sottoposti al taglio dei nervi laringei e la paralisi delle corde vocali facilitava forse l'infezione delle vie respiratorie, favorita dallo stato di grave deperimento generale.

A resultati analoghi hanno condotto le esperienze di inoculazione con filtrati non sterili; quando prevalse l'azione tossica si ebbe la morte in pochi giorni, senza localizzazioni blastomicetiche; quando invece i parassiti ebbero campo di moltiplicarsi nei tessuti l'infezione decorse come nel caso di iniezione di soli microrganismi.

Le inoculazioni ripetute di prodotti solubili e di culture nei cani furono bene sopportate degli animali, che non presentavano alla necroscopia nessuna particolare lesione caratteristica.

3. Inoculazione coi blastomiceti morti insieme coi prodotti solubili.

Questa serie di esperienze è stata fatta allo scopo di vedere, se oltre all'azione dei prodotti solubili elaborati dai blastomiceti nei terreni di cultura, se ne potessero mettere in evidenza altre, eventualmente diverse, dovute ai corpi dei microrganismi morti, e quindi incapaci di svilupparsi nell'organismo, inoculati insieme ai prodotti solubili stessi. Inoltre, servendosi di culture intere in mezzi liquidi, invecchiate e morte spontaneamente, si volle indagare l'azione di sostanze che potessero essersi in esse formate come prodotto di

un disfacimento delle cellule blastomicetiche morte. Abbiamo adoperato a questo intento:

I) delle culture in brodo acido glucosato con succo di patate, in tubi chiusi alla lampada, mantenute per molti mesi allo scuro, a temperatura ambiente o in termostato, fino a morte spontanea dei germi.

II) delle emulsioni di culture su patate, in toto (terreno e patina culturale), fatte pure in tubi chiusi e lasciate invecchiare a lungo fino alla morte spontanea dei parassiti.

III) infine l'emulsione dell'abbondante sedimento formatosi in un vecchio pallone di cultura di brodo acido glucosato con succo di patate, previa uccisione dei blastomiceti ancora viventi per mezzo dell'agitazione prolungata con toluolo.

Le inoculazioni sono state praticate sottocute, nel peritoneo ed anche in alcuni organi parenchimali epiteliali (rene, testicolo), per vedere se gli elementi cellulari di tali tessuti presentassero fenomeni di reazione allo stimolo tossico portato direttamente su di essi. Le culture fatte da questi animali resultarono sempre negative. Riferiamo successivamente le varie esperienze eseguite colle modalità tecniche suddette e relative ai tre ceppi di blastomiceti.

I. Brodoculture, morte, in tubi chiusi.

A. *Blastomicete 3.*

1. Cavia 117, iniezione transcutanea nei due reni, di cc. 0,1 di cultura di 6 mesi, † 4 giorni. Iperemia degli organi; emorragie renali.
2. Cavia 118, iniezione nel testicolo sinistro, come la precedente, † 1 $^{1}/_{2}$ mesi. Nulla di notevole nel testicolo iniettato. Emorragie e degenerazioni negli organi, leggera desquamazione degli endoteli nelle gh. linfantiche mesenteriche.
3. Cavia 119, iniezione nel peritoneo, cc. 0,25, come la precedente, † 7 giorni. Iperemia e degenerazione degli organi.
4. Cavia 120, come la precedente, cc. 0,5, † 7 giorni. Reperto analogo alla precedente.
5. Cavia 129, iniezione transcutanea nel reno destro, cc. 0,05, † 10 giorni. Nel rene destro e altri organi iperemia e degenerazioni; desquamazione degli endoteli delle gh. linfatiche.
6. Cavia 130, come la precedente, nel peritoneo, † 8 giorni. Iperemia e degenerazioni degli organi.

7. Cavia 131, come la precedente, † 6 giorni. Reperto analogo alla precedente.
8. Cavia 155, cultura di 7 mesi, nel peritoneo, cc. 0,01, † 4 giorni. Reperto analogo alla precedente.
9. Cavia 156, come la precedente, † 32 giorni. Reperto analogo alla precedente.
10. Cavia 157, come la precedente, † 12 giorni. Reperto analogo alla precedente; iperplasia delle gh. linfatiche.
11. Cavia 170, cultura di 8 mesi, cc. 0,005, sottocute, † 2 $^1/_2$ mesi. Emorragie polmonari, degenerazioni e sclerosi degli organi. lieve desquamazione endoteliale nelle gh. linfatiche.
12. Cavia 171, come la precedente, † 12 giorni. Iperemia e degenerazioni degli organi.
13. Cavia 172, come la precedente, † 4 giorni. Reperto analogo alla precedente.

1. Ratto 43, iniezione sottocute di cc. 0,5 di cultura di 5 $^1/_2$ mesi, † 1 $^1/_2$ mesi. Iperemia e degenerazioni degli organi.
2. Ratto 44, come il precedente, cc. 0,25, † 6 giorni. Un piccolo focolaio di polmonite. Iperemia e degenerazione degli organi.
3. Ratto 45, come il precedente, cc. 1, nel peritoneo, † 1 $^1/_2$ mesi. Iperemia e degenerazione degli organi.
4. Ratto 46, come il precedente, cc. 0,5, † 3 mesi. Reperto analogo al precedente.
5. Ratto 47, come il precedente, cc. 0,25, † 2 $^1/_2$ mesi. Reperto analogo al precedente.
6. Ratto 48, come il precedente, † 3 mesi circa. Reperto analogo al precedente.

1. Cane 21, iniezione sottocute del pene di cc. 1 di cultura di 7 mesi circa. Ucciso dopo 6 mesi. Non presenta nulla di notevole.
2. Cane 24, iniezione nel testicolo destro di cc. 1 di cultura di 8 mesi circa, † 1 $^1/_2$ mesi. Lieve sclerosi del testicolo destro. Degenerazioni e sclerosi nel fegato e nel rene; desquamazione degli endoteli nelle gh. linfatiche.

B. *Blastomicete* 4.

1. Cavia 121, iniezione transcutanea nel rene sinistro di cc. 0,1 di cultura di 6 mesi, † 5 giorni. Nel rene sinistro un focolaio necrotico, in questo e negli altri organi iperemia, emorragie, degenerazioni.

2. Cavia 122, iniezione nel testicolo destro, come la precedente, † 6 giorni. Testicolo destro iperemico e edematoso con lieve infiltrazione; iperemia e degenerazione negli altri organi.
3. Cavia 123, come la precedente, nel peritoneo, cc. 0,25, † 6 giorni. Iperemia e degenerazioni degli organi.
4. Cavia 124, come la precedente, cc. 0,5. Aumenta di peso e sopravvive.
5. Cavia 132, iniezione transcutanea nel rene sinistro, cc. 0,1, come la precedente, † 8 giorni. Rene sinistro, emorragia, edemi, degenerazioni. Altri organi iperemia, degenerazioni; intensa desquamazione endoteliale nelle gh. linfatiche.
6. Cavia 133, nel peritoneo, come la precedente, † 1 mese circa. Iperemia e degenerazioni degli organi; lieve iperplasia delle gh. linfatiche mesenteriche.
7. Cavia 134, nel testicolo sinistro, come la precedente, † 7 giorni. Nulla di notevole nel testicolo iniettato. Iperemia e degenerazioni negli organi.
8. Cavia 167, sottocute, cc. 0,005, cultura di 8 mesi, † 8 giorni. Iperemia e degenerazioni viscerali.
9. Cavia 168, come la precedente, † 1 mese circa. Qualche focolaio di epatizzazione polmonare; iperemie e degenerazioni negli organi, leggera iperplasia delle gh. linfatiche.
10. Cavia 169, come la precedente, † 3 giorni. Polmonite.

1. Ratto 49, iniezione sottocute di cc. 0,5 di cultura di 5 $^1/_2$ mesi, † 2 $^1/_2$ mesi. Iperemia e degenerazioni degli organi.
2. Ratto 50, come il precedente, cc. 0,25, † 2 mesi circa. Reperto analogo al precedente.
3. Ratto 51, nel peritoneo, cc. 0,5, come il precedente, † 2 $^1/_2$ mesi. Reperto analogo al precedente.
4. Ratto 52, come il precedente, cc. 0,25, † 2 mesi. Reperto analogo al precedente.
5. Ratto 53, come il precedente, † 2 $^1/_2$ mesi. Reperto analogo al precedente.

1. Cane 22, iniezione sottocute del pene di cc. 1, cultura di 7 $^1/_2$ mesi, † 2 mesi circa. Fatti di distrofia cutanea. Degenerazioni degli organi.

C. *Saccharomyces Neoformans.*

1. Cavia 112, iniezione nel peritoneo di cc. 0,5 di cultura di 6 mesi circa, † 4 giorni. Iperemia e degenerazioni degli organi.

2. Cavia 113, come la precedente, cc. 0,25, † 5 giorni. Reperto analogo alla precedente. Emorragie nel polmone.
3. Cavia 114, come la precedente, cc. 0,1, † 5 giorni. Reperto analogo alla precedente.
4. Cavia 115, iniezione transcutanea nel rene sinistro, cc. 0,1, come la precedente, † 15 giorni. Nulla di notevole nel rene iniettato. Reperto degli altri organi analogo alla precedente.
5. Cavia 116, iniezione transcutanea nel testicolo sinistro, come la precedente, † 5 giorni. Iperemia e edema del testicolo iniettato, iperemia e degenerazioni negli altri organi.
6. Cavia 125, iniezione nel peritoneo, cc. 0,05 di cultura di 6 mesi, † 3 $^1/_2$ mesi circa. Iperemia, degenerazioni e lievi fatti di sclerosi negli organi, nel rene anche emorragie; segni di intensa distruzione sanguigna; forte desquamazione degli endoteli nelle gh. linfatiche.
7. Cavia 126, come la precedente, cc. 0,1 † 4 giorni. Iperemia e degenerazioni negli organi.
8. Cavia 127, come la precedente, † 1 mese circa. Fatti degenerativi negli organi.
9. Cavia 128, iniezione transcutanea nel testicolo sinistro, cc. 0,1, † 5 giorni. Nulla di notevole nel testicolo iniettato. Iperemia e degenerazioni negli organi.
10. Cavia 173, iniezione sottocute di cc. 0,005 di cultura di 8 mesi, † 1 $^1/_2$ mese circa. Degenerazioni profonde negli organi. Segni di distruzione sanguigna; iperplasia e desquamazione degli endoteli nelle gh. linfatiche.
11. Cavia 174, come la precedente, † 5 giorni. Iperemia e degenerazioni negli organi.
12. Cavia 175, come la precedente, † 7 giorni. Polmonite.

1. Ratto 37, iniezione sottocute di cc. 0,5 di cultura di 5 mesi, † 2 $^1/_2$ mesi circa. Iperemia, degenerazioni e sclerosi negli organi.
2. Ratto 38, come il precedente, † 3 mesi circa. Reperto analogo al precedente.
3. Ratto 39, iniezione nel peritoneo, cc. 1, come il precedente, † 2 $^1/_2$ mesi. Reperto analogo al precedente.
4. Ratto 40, come il precedente, cc. 0,5, † 3 mesi circa. Reperto analogo al precedente.
5. Ratto 41, come il precedente, cc. 0,25, † 2 mesi circa. Reperto analogo al precedente.
6. Ratto 42, come il precedente, con reperto analogo.

1. Cane 19, iniezione sottocute del pene di 1 cc. di cultura di 7 mesi. Ucciso dopo 6 $^1/_2$ mesi, non presenta nulla di notevole.
2. Cane 20, iniezione nel peritoneo di 1 cc. di cultura di 7 $^1/_2$ mesi, † 5 $^1/_2$ mesi. Deperimento, qualche fatto di distrofia cutanea, degenerazioni negli organi.
3. Cane 23, iniezione nel testicolo destro di 2 cc. di cultura di 8 mesi. Ucciso dopo 5 mesi. Lieve deperimento; nulla di notevole nel testicolo iniettato e negli altri organi.

II. Culture su patata, morte, in tubi chiusi

Saccharomyces Neoformans.

1. Cavia 101, iniezione nel peritoneo, cc. 05, emulsione di cultura di 9 mesi, † 5 giorni. Polmonite.
2. Cavia 102, come la precedente, cc. 0,25, † 22 giorni. Iperemia e degenerazioni negli organi.
3. Cavia 103, come la precedente, cc. 1. Sopravvive.
4. Cavia 158, come la precedente, cc. 0,1, † 4 giorni. Iperemia e degenerazioni degli organi.
5. Cavia 159, iniezione sottocute, cc. 0,1, come la precedente, † 10 giorni. Iperemia, emorragie polmonari, degenerazioni negli organi.
6. Cavia 160, come la precedente. Sopravvive.

1. Ratto 21, iniezione nel peritoneo, cc. 0,25, come la precedente, † 2 mesi. Iperemia, emorragie, degenerazioni e sclerosi degli organi.
2. Ratto 22, come il precedente, † 2 mesi circa. Reperto analogo al precedente.
3. Ratto 23, come il precedente, † 2 $^1/_2$ mesi circa. Reperto analogo al precedente.
4. Ratto 24, come il precedente e con reperto analogo.
5. Ratto 59, come il precedente, cc. 0,1, † 4 giorni. Iperemia e degenerazioni negli organi.
6. Ratto 60, come il precedente, † 2 $^1/_2$ mesi circa. Iperemia, emorragie, degenerazioni e lievi fatti di sclerosi negli organi.
7. Ratto 61, come il precedente e con reperto analogo.

III. Sedimento di cultura in brodo di 9 mesi trattato con toluolo.

Saccharomyces Neoformans.

1. Cavia 108, iniezione transcutanea nel testicolo destro, cc. 0,1, † 3 giorni. Ecchimosi nel testicolo iniettato; degenerazioni negli organi.

2. Cavia 109, iniezione transcutanea nei reni, cc. 0,1, † 4 giorni. Ecchimosi nei reni, degenerazioni negli organi.
3. Cavia 110, iniezione nel peritoneo, cc. 0,25, † 15 giorni. Iperemia e degenerazioni negli organi.
4. Cavia 111, come la precedente, † 3 giorni. Reperto analogo alla precedente.
1. Ratto 55, iniezione sottocute, cc. 0,5, † 1 $^1/_2$ mesi circa. Reperto analogo alla precedente.
2. Ratto 56, come il precedente, cc. 0,25, † 2 $^1/_2$ mesi circa. Reperto analogo al precedente.
3. Ratto 57, iniezione nel peritoneo, cc. 0,5, † 2 mesi. Reperto analogo al precedente.
4. Ratto 58, come il precedente, cc. 0,25, † 3 mesi circa. Reperto analogo al precedente.

Da questa serie di esperienze risulta che la inoculazione di blastomiceti morti insieme coi prodotti solubili elaborati nei terreni di nutrizione (almeno per quanto riguarda i terreni da noi adoperati) e coi prodotti di disfacimento dei corpi dei microrganismi, ha dato luogo sempre a fenomeni di intossicazione generale, più o meno acuta, anche con piccole dosi; rarissimamente gli animali hanno sopravvissuto. La inoculazione diretta in organi a struttura epiteliale, ha pure provocato fatti degenerativi locali e generali. Non ci fermiamo a studiare l'azione di tali sostanze tossiche e la varia resistenza che presentano ad essa gli animali, perchè ciò è estraneo al nostro argomento; constatiamo solo che esse non hanno mostrato attività stimolanti la proliferazione cellulare; nei casi in cui si ebbe neoformazione di tessuto connettivale, questo fatto era la espressione di una sclerosi successiva ad alterazioni degenerative od emorragiche.

4. Inoculazione coi soli prodotti solubili.

Saccharomyces Neoformans.

A completare la serie precedente di esperienze abbiamo voluto praticare anche delle inoculazioni con prodotti solubili soli, cioè privi di germi, tanto vivi che morti. A questo scopo ci siamo serviti dei filtrati su candele *Berkefeld*, sicuramente sterili, di culture di varia età in brodo acido glucosato con succo di patate, del

Saccharomyces Neoformans e dell'acqua glicerinata raccolta nella parte inferiore dei tubi di *Roux* contenenti le culture su patate dello stesso microrganismo, nella quale avevamo osservato un abbondante sviluppo di esso. Le culture fatte dagli animali così inoculati rimasero sempre sterili.

I. Filtrato sterile.

1. Cavia 17, iniezione nel peritoneo di cc. 1 di filtrato di cultura di 18 giorni, † 25 giorni. Iperemia e degenerazioni negli organi, intensa desquamazione endoteliale delle gh. linfatiche.
2. Cavia 71, come la precedente, filtrato di culture di 3 $^1/_2$ mesi, † 1 mese. Reperto analogo alla precedente.
3. Cavia 72, come la precedente, † 2 $^1/_2$ mesi. Reperto analogo alla precedente.
4. Cavia 73, come la precedente, cc. 0,5, † 5 giorni. Iperemia e degenerazioni degli organi.
5. Cavia 74, come la precedente, sottocute, † 5 giorni. Reperto analogo alla precedente.
6. Cavia 75, come la precedente, † 1 $^1/_2$ mesi. Fatti di degenerazione e sclerosi negli organi.
7. Cavia 98, iniezione nel peritoneo di cc. 1 di filtrato di cultura di 10 $^1/_2$ mesi, † 1 mese circa. Iperemia o degenerazione degli organi, qualche focolaio di polmonite.
8. Cavia 99, come la precedente, cc. 0,5, † 19 giorni. Iperemia e degenerazioni degli organi.
9. Cavia 100, come la precedente, cc. 0,25, † 6 giorni. Reperto analogo alla precedente.

1. Ratto 8, iniezione nel peritoneo di cc. 0,5 di filtrato di cultura di 18 giorni, † 9 $^1/_2$ mesi. Trasformazione del polmone destro e in parte del sinistro in una massa gialla, caseosa, che riempie il torace (come nei ratti 2 e 3).
2. Ratto 33, come il precedente, cc. 1 di filtrato di cultura di 8 $^1/_2$ mesi, † 1 mese. Iperemia, degenerazioni e sclerosi negli organi.
3. Ratto 34, come il precedente, cc. 0,5, † 10 giorni. Iperemia e degenerazioni negli organi.
4. Ratto 35, come il precedente, cc. 0,25, † 3 mesi circa. Iperemia, degenerazioni e sclerosi negli organi.
5. Ratto 36, come il precedente, † 3 mesi. Reperto analogo al precedente.

II. Acqua glicerinata filtrata di cultura su patata.

1. Cavia 21, iinezione nel peritoneo di cc. 1 di filtrato di cultura di 37 giorni, † 6 $^1/_2$ mesi. Iperemia, emorragie é degenerazioni negli organi.
2. Cavia 22, come la precedente, cc. 0,5, † 25 giorni. Iperemia e degenerazione degli organi, focolai necrotici nel fegato, desquamazione degli endoteli nelle ghiandole linfatiche.
3. Ratto 11, iniezione sottocute di cc. 1, come la precedente, † 9 mesi circa. Iperemia, degenerazioni, sclerosi e focolai necrotici nei varî organi.
4. Ratto 12, come il precedente, cc. 0,5, † 5 mesi circa. Reperto analogo al precedente.

Come risulta da queste esperienze i prodotti solubili esistenti nelle culture, inoculati da soli, non esercitano altro che un'azione tossica, che si esplica con disturbi circolatori e degenerazioni parenchimali.

5. **Inoculazione coi corpi dei blastomiceti morti.**

Saccharomyces Neoformans.

Con questa ultima serie di esperienze si è voluto vedere se i corpi dei blastomiceti morti, di per sè stessi, fossero capaci di esercitare qualche speciale azione sui tessuti. A questo scopo abbiamo inoculato:

I. delle emulsioni in soluzione fisiologica di patine culturali, a vario periodo di sviluppo, su agar preparato con succo di patate; tali emulsioni venivano agitate a lungo con toluolo per esser sicuri che non contenessero germi viventi, e si usarono solo dopo averne accertata la sterilità;

II. delle sospensioni di polvere di blastomiceti, ottenute coll'essiccamento e la triturazione da emulsioni in acqua sterile preparate pure nel modo precedentemente indicato;

III. del nucleoproteide preparato dai blastomiceti secondo il metodo *Lustig-Galeotti*, per vedere se questo componente della cellula blastomicetica presentasse proprietà analoghe a quelle dei corpi cellulari inoculati integri o dopo essiccamento.

Anche queste esperienze furono fatte con culture del *Saccharomyces Neoformans.* Le culture fatte dagli animali rimasero sempre sterili.

I. Patine culturali.

1. Cavia 104, iniezione in peritoneo di cc. 0,5, di emulsione di cultura di 8 mesi, † 6 giorni. Iperemia, emorragie e degenerazioni negli organi.
2. Cavia 105, come la precedente, cc. 0,25, † 2 mesi. Iperemia, emorragie e degenerazioni negli organi.
3. Cavia 106, iniezione sottocute, cc. 0,5, come la precedente, † 5 giorni. Deperimento grave; iperemia e degenerazioni negli organi.
4. Cavia 107, come la precedente, cc. 0,25, † 7 giorni. Reperto analogo alla precedente.
5. Cavia 135, come la precedente, cc. 0,5, † 15 giorni. Iperemia e degenerazioni negli organi.
6. Cavia 136, come la precedente, † 10 giorni. Reperto analogo alla precedente.
7. Cavia 137, iniezione nel peritoneo, cc. 0,25, come la precedente, † 2 mesi circa. Iperemia, degenerazioni e fatti di sclerosi negli organi.
8. Cavia 138, come la precedente, † 3 giorni. Iperemia e degenerazioni negli organi.
9. Cavia 139, iniezione transcutanea nel rene destro di cc. 0,1, come la precedente, † 24 giorni. Iperemia, emorragie e degenerazioni negli organi; desquamazione endoteliale nelle ghiandole linfatiche. Nel rene iniettato zone edematose, focolai di sclerosi incipiente, in qualche punto corpi di blastomiceti alterati, senza reazione attorno.
10. Cavia 140, iniezione transcutanea nel testicolo sinistro, † 19 giorni. Nulla di notevole nel testicolo iniettato. Iperemia e degenerazioni negli organi.
11. Cavia 141, iniezione nel peritoneo, cc. 0,01 come la precedente, † 3 giorni. Iperemia e degenerazioni negli organi.
12. Cavia 142, come la precedente, cc. 0,005, † 5 giorni. Reperto analogo alla precedente. Un focolaio di polmonite.
13. Cavia 143, iniezione sottocute, cc. 0,01, come la precedente, † 2 mesi circa. Iperemia, degenerazioni e sclerosi degli organi.
14. Cavia 144, come la precedente, cc. 0,02, † 3 giorni. Piccolissima

raccolta purulenta nel punto di iniezione. Iperemia e degerazioni negli organi.

15. Cavia 161, come la precedente, cc. 0,1, † 20 giorni. Iperemia e degenerazioni negli organi.
16. Cavia 162, iniezione nel peritoneo, come la precedente, † 8 giorni. Reperto analogo alla precedente.
17 Cavia 163, iniezione sottocute, come la precedente, † 8 giorni. Polmonite.
18. Cavia 164, iniezione nel peritoneo, cc. 0,002, † 10 giorni. Iperemia e degenerazioni degli organi.
19. Cavia 165, come la precedente, † 20 giorni. Reperto analogo alla precedente.
20. Cavia 166, come la precedente, † 8 giorni. Reperto analogo alla precedente.

1. Ratto 17, iniezione nel peritoneo, cc. 0,25, come la precedente, † 2 mesi circa. Reperto analogo alla precedente.
2. Ratto 18, come il precedente, † 2 1/2 mesi. Reperto analogo al precedente. Fatti di sclerosi.
3. Ratto 19, come il precedente, † 2 1/2 mesi circa. Reperto analogo al precedente.
4. Ratto 20, come il precedente, con reperto analogo.

II. Blastomiceti seccati.

1. Cavia 19, iniezione nel peritoneo di ctg. 1 di blastomiceti seccati (cultura fresca), † 23 giorni. Iperemia, emorragie e degenerazioni negli organi.
2. Cavia 20, come la precedente ctg. 0,5, † 9 1/2 mesi. Iperemia, degenerazioni e sclerosi negli organi.
3. Cavia 57, come la precedente, ctg. 1, † 8 1/2 mesi. Zone di epatizzazione polmonare, degenerazioni e sclerosi negli altri organi.
4. Cavia 58, come la precedente, † 9 giorni. Iperemia e degenerazioni negli organi.
5. Cavia 95, come la precedente, ctg. 1 di blastomiceti seccati (cultura di 40 giorni), † 4 1/2 mesi. Iperemia, emorragie pregresse, degenerazioni e sclerosi negli organi; desquamazione endoteliale nelle gh. linfatiche.
6. Cavia 96, come la precedente, † 4 1/2 mesi. Focolai di polmonite; degenerazioni negli organi.
7. Cavia 97, come la precedente, † 3 mesi. Iperemia, emorragie pregresse, degenerazioni e sclerosi negli organi.

1. Ratto 9, iniezione sottocute di ctg. 0,5 di blastomiceti seccati (cultura fresca), † 8 giorni. Raccolta di blastomiceti alterati nel punto d' iniezione. Iperemia e degenerazioni negli organi.
2. Ratto 10, come il precedente, † 6 mesi circa. Iperemia e degenerazioni negli organi.

III. Nucleoproteide dei blastomiceti.

1. Cavia 7, iniezione nel peritoneo di cc. 1 di soluzione di nucleoproteide, † 8 giorni. Polmonite.
2. Cavia 8, come la precedente, † 8 giorni. Iperemia e degenerazioni negli organi.
3. Cavia 9, come la precedente, † 1 $^1/_2$ mesi circa. Deperimento, iperemia e degenerazioni negli organi.
4. Cavia 10, come la precedente, † 1 mese circa. Reperto analogo alla precedente.

Da queste ultime esperienze risulta che anche i corpi dei blastomiceti, variamente preparati, esercitano un'azióne tossica generale sull'organismo, che si manifesta con le comuni alterazioni vasali e degenerative, senza provocare particolari reazioni da parte dei tessuti.

Resultati delle ricerche sperimentali.

Per ciò che riguarda la coltivazione dei blastomiceti dai tumori i nostri resultati si accordano con quanto hanno osservato la maggior parte degli altri sperimentatori. Non abbiamo mai ottenuto questi germi in cultura pura; essi erano sempre accompagnati da altri microrganismi comuni, che si sono potuti coltivare insieme coi blastomiceti stessi. Pure valendosi di tutte le cautele della tecnica difficilmente le culture fatte dai tumori rimasero sterili. Se quindi da una parte la frequenza del reperto di blastomiceti fu abbastanza rilevante (2 volte sopra 34, non tenendo conto dei primi due ceppi isolati), dall'altra la facilità con cui s'incontrano altri germi, certamente provenienti da inquinamento accidentale, ci impedisce di escludere con sicurezza che da un tale inquinamento derivino anche i blastomiceti medesimi.

Fra le alterazioni istologiche provocate negli animali dalla ino-

culazione dei blastomiceti da noi isolati e del *Saccharomyces neoformans*, o dai loro prodotti, interessa sopratutto di prendere in considerazione quelle ottenute nelle cavie e nei ratti per mezzo di culture vive o di culture vive insieme con prodotti solubili. Tutte le inoculazioni praticate nei cani, e tutte quelle praticate in questi e negli altri animali, coi prodotti solubili dei blastomiceti, privi di germi viventi, con culture morte o con corpi cellulari, variamente preparati, hanno sempre dato luogo a fenomeni d'intossicazione generale grave ed a lesioni parenchimali tossiche, senza alcun segno di speciali reazioni proliferative da parte dei tessuti, e quindi non sono da prendersi in considerazione per il nostro argomento. Per brevità tralasciamo di esporre i particolari istologici di queste alterazioni.

I resultati forniti dalle culture vive sole, o dalle culture vive insieme con i loro prodotti solubili, sono perfettamente paragonabili e si possono descrivere insieme; lo stesso può dirsi per quello che riguarda le esperienze eseguite coi tre ceppi di blastomiceti; avvertendo però che nei ratti colle sole culture di *Saccharomyces neoformans* non si ebbero le particolari alterazioni, provocate cogli altri due ceppi di blastomiceti; di cinque animali inoculati, uno (Ratto 1) morì per blastomicosi diffusa, avendo ricevuto una dose fortissima di parassiti; due (Ratto 2 e 3) morirono di una infezione accidentale, uguale a quello del Ratto 8, dovuta ad un microrganismo appartenente probabilmente al gruppo del bacillo del *Gärtner;* il quarto morì per intossicazione ed il quinto, ucciso dopo 2 $^1/_2$ mesi, non presentava nulla di notevole; risultati più favorevoli fornirono invece i ratti inoculati con blastomiceti vivi insieme coi loro prodotti solubili.

La alterazione più importante nelle cavie è la produzione di *pseudo-tumori dell'epiploon*, che si verifica frequentemente per infezione nella cavità peritoneale, molto più raramente per inoculazione sottocutanea. Essi sono rappresentati da masse voluminose, di colorito biancastro, di forma rotondeggiante, ovale, allungata, o irregolare, che occupano l'epiploon e stanno aggruppate insieme in una specie di grappolo, talvolta comprendente in sè alcune ghiandole linfatiche o porzioni del pancreas (Tav. VII, fig. 1). Istologicamente risultano da ammassi di blastomiceti di vario aspetto e di

vario volume, spesso in via di gemmazione, contenuti in una trama connettivale per lo più scarsa, talora più abbondante e costituita da trabecole di una certa grossezza, che portano vasi. Nelle maglie di questo trabecolato, framezzo ai parassiti, si trovano pochi leucociti e cellule di granulazione ed altri elementi di aspetto endoteliale, spesso in via di degenerazione, debolmente colorati, talvolta contenenti blastomiceti interi o a frammenti (Tav. VII, fig. 2). Si tratta dunque, non di un tessuto neoplastico, ma del prodotto di una intensa moltiplicazione dei parassiti che infiltrano la sierosa.

Negli organi la presenza dei blastomiceti qualche volta non è accompagnata da nessuna reazione da parte del tessuto, e si possono vedere aggruppamenti di questi microrganismi nel rene, nel pancreas, nel cervello, ecc. che sembrano come innicchiati in cavità del parenchima, senza nessuna traccia di fenomeni reattivi circostanti; più spesso però i focolai sono circondati da uno scarso tessuto di granulazione, le cui cellule possono anche fagocitare i parassiti; non di rado vi si vedono pure cellule giganti. Nei polmoni, ove i blastomiceti, trasportati per le vie sanguigne, si fermano a preferenza nei capillari, questa produzione di tessuto, insieme colla desquamazione degli endoteli vasali, dà luogo ad un notevole ispessimento dei setti interalveolari, che appaiono abbondantemente infiltrati di cellule a tipo epitelioide e giganti; tale alterazione, oltre a rappresentare una reazione allo stimolo portato dalla presenza dei parassiti, rappresenta anche un processo di riparazione delle parti di parenchima polmonare distrutte dalle abbondanti e numerose emorragie (Tav. VIII, fig. 4).

Gli elementi epitelioidi non mostrano mai alcuna connessione cogli epiteli alveolari e bronchiali, i quali sono talvolta desquamati o alterati, ma non presentano segni di proliferazione. Oltre a questa infiltrazione parassitaria diffusa, si trovano nel polmone focolai circoscritti di blastomiceti, con scarsa produzione di tessuto di granulazione attorno (Tav. VIII, fig. 3) e che macroscopicamente hanno l'aspetto di nodulini grigi, semi-trasparenti, come tubercoli miliarici.

Negli altri organi i focolai blastomicetici corrispondono agli ultimi descritti nei polmoni. Nelle ghiandole linfatiche le alterazioni presentano aspetti differenti. Anche in assenza di parassiti e negli animali inoculati con soli prodotti tossici, può aversi una linfoade-

nite desquamativa così spiccata da vedersi talvolta i seni della ghiandole linfatiche quasi completamente ripieni di endoteli distaccati e rigonfiati, spesso carichi di pigmento ematico, derivante dalle estese distruzioni sanguigne, che si verificano per le emorragie, frequentissime nei vari organi (Tav. IX, fig. 5).

Quando son presenti i parassiti, oltre a queste alterazioni, se ne possono osservare altre che vanno dalla modica infiltrazione di blastomiceti e dalla formazione di focolai simili a quelli che si trovano in altri organi, alla scomparsa quasi completa del tessuto adenoide, in modo che della ghiandola rimane poco più che una cavità, circondata da una capsula connettivale e piena di un detrito protoplasmatico e cromatinico, puriforme, contenente blastomiceti. Altre volte i focolai rimangono limitati e a poco a poco si circondano di un tessuto connettivale, che si fa sempre più povero di cellule, fino ad aversi in alcuni animali, morti dopo lungo tempo, dei noduli connettivali fibrosi, nel cui interno rimangono ancora dei blastomiceti spesso alterati e poco colorabili (Tav. IX, fig. 6). Dalla descrizione precedente risulta dunque che in tutti questi casi si tratta di processi di flogosi cronica caratterizzata da produzione di tessuto di granulazione.

La struttura istologica stessa di queste neoformazioni; la loro diffusione nei vari tessuti in rapporto colla presenza dei parassiti o di lesioni distruttive da essi provocate (emorragie polmonari); la tendenza che mostrano non ad espandersi per proliferazione cellulare, ma circoscriversi di connettivo adulto e ad incapsularsi, ed infine la mancanza di un tumore primitivo a sviluppo progressivo capace di spiegarle come produzioni metastatiche a distanza, sono tutti motivi che fanno escludere la natura neoplastica di tali processi neoformativi.

Assai interessanti si presentano anche i reperti ottenuti nei ratti, perchè in questi animali si ebbe talvolta la produzione di vere neoformazioni di tessuto, a struttura simile a quella di alcuni tumori, la cui natura quindi merita di essere discussa e interpretata. Nei ratti inoculati col blastomicete 3 (ratti 30, 63, 64, 65) si sono osservati dei noduletti nell'epiploon, per lo più aderenti al pancreas, costituiti da un tessuto formato di cellule irregolari, poligonali, o fusiformi ed anche di cellule giganti, e contenente residui di bla-

stomiceti scolorati; attorno al nodulo prevaleva il connettivo fibrillare, e qua e là vi erano focolai d'infiltrazione. Queste formazioni ricordavano per la loro struttura i sarcomi a elementi polimorfi (Tav. X, fig. 7); in un caso vi era uno nodulo appiattito anche sulla superficie del fegato. Altre volte le cellule di aspetto epitelioide erano disposte attorno ad una massa granulosa amorfa, contenente residui di blastomiceti, ed erano circondate da uno strato di connettivo fibrillare, in modo da somigliare a granulomi tubercolari; di tali formazioni se ne osservarono alcune tipiche nel fegato del ratto 64. Infine il tessuto in altri casi risultava in gran parte di connettivo in degenerazione ialina contenente delle cellule epitelioidi e giganti e focolai d'infiltrazione parvicellulare; sempre vi si vedevano residui di blastomiceti scolorati.

Reperti analoghi offrirono i ratti inoculati col blastomicete 4; nel ratto 25 esisteva un nodulo nel piccolo bacino, costituito da una cavità piena di blastomiceti scolorati e di un detrito granuloso, attorno vi era una zona epitelioide e più esternamente uno strato di connettivo fibrillare ricco di cellule e parzialmente infiltrato; i noduli peritoneali avevano la stessa struttura e contenevano pure residui di blastomiceti; nel ratto 26 si riscontrò solo un nodulo di cellule epitelioidi in un polmone, nel quale non si poterono dimostrare i parassiti; nel ratto 27 i noduli risultavano prevalentemente di un ammasso di parassiti e di detrito, con scarsa reazione da parte del tessuto; struttura simile avevano le neoformazioni osservate attorno al pancreas nel ratto 28, il connettivo ialino conteneva gruppi di blastomiceti scolorati, difficilmente riconoscibili e focolai d' infiltrazione parvicellulare. In questi animali quindi si trattava di reazione flogistica cronica, senza neanche la formazione di tipici granulomi, come si erano ottenuti col blastomicete 3; la mancanza di parassiti nel ratto 26 è probabilmente imputabile al fatto che in tutte queste produzioni essi si presentano sempre profondamente alterati e molto difficilmente colorabili, onde è possibile che possano sottrarsi all'osservazione.

Riguardo agli animali inoculati col *Saccharomyces neoformans*, i primi due, iniettati sottocute (ratti 13 e 14), che avevano presentato nel punto d'iniezione un'ulcerazione, guarita poi spontaneamente, mostrarono l'uno delle formazioni di cellule epitelioidi,

cellule giganti e connettivo nei polmoni e nel peritoneo, in vicinanza della milza e del pancreas, l'altro dei granulomi assolutamente tipici, nel fegato (Tav. X, fig. 8); in entrambi vi erano blastomiceti più o meno ben conservati, anche nell' interno delle cellule giganti; alcune di queste neoformazioni presentano la struttura tipica del tubercolo. Nei due ratti inoculati nel peritoneo (ratti 15 e 16) tali produzioni granulomatose erano numerose e nei polmoni spesso fuse insieme, nello stesso modo col quale appaiono fusi i tubercoli; in uno di essi si osservarono anche in altri organi.

Sulla natura di queste neoformazioni crediamo che non vi possa esser dubbio, la maggior parte presentano la struttura tipica dei granulomi ed anche in base ai soli caratteri istologici devono esser classificate come tali, in altre la struttura non è così tipica e si avvicina anzi a quella dei sarcomi. Per ammettere che si tratti di vere neoplasie sarcomatose si dovrebbe quindi ritenere che i blastomiceti abbiano prodotto in un caso dei tumori veri ed in altri dei granulomi; ma anche accettando queste ipotesi non ci sembra che la natura sarcomatosa di quelle neoformazioni sia sostenibile. Anzi tutto esse non avevano neppure l'aspetto macroscopico di tumori, si trattava di nodulini molto piccoli, del volume di un chicco di grano o poco più; mentre è noto che nei ratti e nei topi i neoplasmi, spontanei o innestati, raggiungono in breve tempo un grande volume; mancava quindi quella intensa attività proliferativa che caratterizza i tumori e che si rivela con una grande abbondanza di figure cariocinetiche, quale nel nostro caso non fu osservata. Inoltre non vi era formazione di metastasi: la presenza di focolai multipli in alcuni animali si spiega molto facilmente col reperto in essi di blastomiceti, che vengono trasportati dal sangue e si fermano nei vari organi. Possiamo aggiungere che queste neoformazioni hanno sempre presentato struttura connettivale e non si comprende come, se si trattasse di veri tumori, non dovessero qualche volta reagire allo stimolo parassitario anche altri tessuti, per esempio gli epiteli bronchiali o polmonari, o quelli delle vie biliari, quando i parassiti invadono i polmoni o il fegato.

Si deve infine tener conto della facilità colla quale i ratti reagiscono a stimoli di varia natura con produzione di tessuto connettivale: è stato osservato (*Lewin*) che anche alle iniezioni di alcu-

ronato, alle quali gli altri animali rispondono in generale con un processo suppurativo, i ratti reagiscono colla formazione di un granuloma. Non è quindi assurdo il pensare che gli stessi blastomiceti nella cavia trovino un terreno opportuno per una abbondante moltiplicazione, alla quale gli elementi del tessuto oppongono scarsa reazione; nei ratti invece si moltiplichino meno facilmente (ed infatti di rado si possono riottenere in cultura) e, morendo, finiscano per restare come corpi di difficile assorbimento in seno ai tessuti e stimolino alla proliferazione specialmente gli elementi di natura connettivale, come avviene appunto per l'aleuronato o per certi bacilli acido-resistenti. Si può anche ricordare a questo proposito che di recente *Podwyssozki* ottenne dei granulomi, costituiti quasi esclusivamente di cellule giganti, iniettando della farina fossile nel peritoneo delle cavie.

Per tutte queste considerazioni crediamo che anche le neoformazioni dei ratti, per quanto talvolta possano avere l'apparenza istologica di neoplasmi, siano da ritenersi come semplici processi di natura granulomatosa.

Considerazioni generali e conclusioni.

Poche parole ci restano a dire ancora per esporre le conclusioni generali del nostro lavoro; già dalla critica che abbiamo fatto dei singoli argomenti, che vengono portati a sostegno della teoria parassitaria dei tumori, è risultato come nessun fatto possa invocarsi con certezza a dimostrazione di essa, ma che d'altra parte s'incontrano alcuni problemi nello studio biologico dei neoplasmi, i quali troverebbero in quella dottrina una facile spiegazione. Certamente fino al momento attuale la dimostrazione sperimentale della verità di una tale dottrina non è stata data, e fra le varie ricerche dirette a questo scopo, quelle in appoggio della origine blastomicetica dei tumori non sembrano più convincenti delle altre. Abbiamo già ricordato le critiche più importanti mosse da varie parti alle conclusioni che il *Sanfelice* crede di poter trarre dalle sue esperienze; i resultati da noi ottenuti confermano quelli di altri osservatori (*Sternberg* e altri) e non depongono in favore della natura neoplastica delle neoformazioni provocate dai blastomiceti. Assolutamente

negativi riescirono inoltre gli esperimenti diretti a studiare l'azione dei prodotti tossici di tali germi, ai quali, sempre secondo il *Sanfelice*, spetterebbe la parte essenziale nella produzione dei tumori. Dobbiamo però riconoscere che i liquidi culturali da noi usati non corrispondono a quelli adoperati dall' A., la composizione dei quali ci è sconosciuta; ciò però non si può dire per le inoculazioni fatte colle emulsioni di patate, colle quali il *Sanfelice* ottenne pure resultati positivi.

D'altra parte è alquanto strano che una tossina dotata di proprietà così caratteristiche non si formi altro che in uno speciale terreno: per quanto sappiamo sulla biologia di altri microrganismi, per es. di quello della difterite o del tetano, le tossine specifiche si formano nei terreni più comuni e la composizione di questi influisce solo sulla rapidità e sulla quantità di tale produzione.

Come conclusione possiamo quindi affermare che se la teoria blastomicetica non è ancora dimostrata, non si può ancora con certezza escludere che altri parassiti possano eventualmente avere imimportanza eziologica nello sviluppo dei tumori, e crediamo di porre fine nel miglior modo alla nostra trattazione ripetendo il pensiero di *Ehrlich* che quanto più si studiano i tumori tanto più ci si persuade non esservi una causa unica delle neoplasie maligne e che la esclusività è l'errore capitale di tutte le teorie eziologiche finora proposte; forse fra i numerosi fattori e stimoli che si devono ritenere responsabili dell'origine di un tumore maligno, occasionalmente possono avere un'azione stimolatrice dei parassiti o delle tossine, e dobbiamo quindi concludere che allo stato attuale delle nostre cognizioni scientifiche se la esistenza di neoplasmi di origine infettiva non si può ritenere dimostrata, neppure si può con ragione assolutamente negare.

Bibliografia.

ADAMKIEWICZ, Zur Krebsparasitenfrage. (Deut. Med. Woch., 1894).

ADLER, Protozoa and carcinoma. (Amer. Jour. of Med. Sc., CVII, 1894).

AIEVOLI, Nuovo contributo allo studio dei blastomiceti nei neoplasmi. (Rif. med., 1895; Centralb. fur Bact., XX, 1896).

Albarran et Bernard, Sur un cas de tumeur, etc. (Arch. de med. exper., 1897).

Albarran, Sur le tumeurs epithéliales, etc. (C. R. Soc. de Biol., 1889).

Alessandri, Bacteriologische Untersuchungen bösartiger Geschwülste. (Centralb. fur Bact., XXXIII, 1902).

Apolant, Die experimentelle Erforschung der Geschwülste. (Kolle u. Wassermann Hand. d. Pat. Mikroorg. Ergänz., Bd. II, 1907).

Banti, I parassiti della malattia mammaria del Paget. (Sperimentale, XLVIII, 1894); Sui parassiti del carcinoma, (Rif. med., 1893); Anatomia patologica. Milano, 1907.

Barbacci, Tumori. Vallardi, Milano.

Bashford, Ueber den Krebs der Menschen und der Tiere. (Berl. klin. Woch., 1909).

Bashford, Murray, Haaland, Ergebnisse der experimentelle Krebsforschung. (Zeitsch. f. Immun. forsch. und exper. Ther., I, 1909).

Baisch, Deut. med. Woch., 1908.

Behla, Die Pflanzenparasit. Ursache des Krebses, ecc. Berlin, 1908.

Bergonzini, Sopra i cosidetti parassiti del cancro. (Rass. d. Sc. med., 1891).

Biagi, Ricerche istologiche e microbiologiche su di un mixosarcoma, ecc. (Policlinico, 1899).

Binaghi, Sulla presenza di blastomiceti negli epiteliomi, ecc. (Policlinico, III, C., 1896).

Bonome, Sull' importanza dei blastomiceti nei tumori. (Atti d. R. Ist. ven. Sc. L. e A., IX, 1898).

Borrel, Les thèories parasitaires du cancer. (Ann. Inst. Past. 1901). Le probleme etiologique du cancer. (Zeits, f. Krebsf., 7, 1909); Acariens et Cancer. (Ann. Inst. Past., XXIII, 1909).

Bosc, Le cancer maladie infectieuse à sporozoaires. Paris 1898; Les maladies à sporozoaires. (Ann. med. exper., 1901).

Bossi, Atti del III Cong. della Soc. it. di ostetricia.

Bra, Le cancer et son parasite. Paris, 1900; Culture in vitro des cellules cancéreuses. Paris, 1909.

Braithwaitce, On the microorganism of cancer. (Lancet, 1895).

Burchardt, Ueber ein Coccidium im Schleimkrebs, ecc. (Virch. Arch., CXXXI, 1893).

Busse, Ueber parassitäre Zelleinschlüsse und ihre Züchtung. (Centralbl. f. Bact., XVI, 1894 e XVII, 1895); Die Hefe als Krankheitserreger. Berlin, 1897; Ergebnisse der allg. Path., 1898; Die Sprosspilze (in Kolle e Wassermann Handb. d. Path. mikr., Bd. I).

Carini, Contributo istologico e sperimentale alla etiologia dei tumori. (Policlinico, C., 1900).

Casagrandi, Azione patogena dei blastomiceti. (Ann. d' Ig. sperim., 1899).

Cattle, Observations on the histology of carcinomata, ecc. (Jour. of. Path. and Bact., 1894).

Cattle e Miller, On certain gregarinidae, ecc. (Lancet, 1893).

Cavazzani, Intorno ai blastomiceti dei tumori. (Riv. ven. di Sc. med., XXXII, 1900).

Cazin, Contribution à l'etude des dégénérescences cellulaires. (Jour. d. Anat. e Phys., 1890).

Chevalier, Sur un champignon parassite du cancer. (Acc. d. Sc. e Gaz. Hopit., 1899).

Claessen, Ein Beitrag zur Frage über die in Carcinomzelle gefundenen Einschlüsse, (Ziegl. Beitr., XIV, 1893).

Clarke, Observations on the Histology of Cancer; Sporozoa in Sarcoma. (Centr. f Bact., XVI, 1894).

Cohn, Untersuchungen über ein neue tierpathogene Hefeart. (Centr. f. Bact., XXXI e XXXIII, 1902).

Mc. Coy, A preliminary report on tumors found in wild rats. (Jour. of med. resear., XXI, 1909).

Cona, I presunti parassiti nei tumori maligni. Napoli, 1908.

Contamin, Le Cancer expérimental. Paris, 1910.

Cornil, Der Parasitismus in Krebs. (Centr. f. Bact., XVI, 1894).

Corselli e Frisco. Blastomicete patogeno per l' uomo. (Ann. d' Ig. sper., 1895).

Czerny, Warum durfen wir die parasitäre Theorie, ecc. (Beitr. z. Klin. Chir., 1899).

Curtis, Contribution à l'etude de la Saccharomycose humaine. (Ann. d. Inst. Past. 1896); Sur le parasitisme du cancer. (Acc. d. Biol., 1899).

Dahl, Milben als Erzeuger von Zellwucherungen. (Centr. f. Bact., LIII, 1910).

D'Anna, Sopra i blastomiceti nei tumori maligni. (La Clinica Chirurgica, 1903).

Delépine, Protozoa and carcinoma. (Britis, med. Jour., 1892).

Doyen, Le micrococcus neoformans et les nèoplasmes. Paris, 1903; Le Cancer. Paris, 1909.

Dunger u. Werner, Das Wesen der bosartigen Geschwülste. Leipzig, 1907.

DUPLAY e CAZIN, Tumeurs experimentales chez les animaux. Du parasitisme dans le cançer. (Atti dell' XI Congr. di Med. di Roma. 1894).

EHRLICH, Beiträge zur experimentellen Pathologie und Chemotherapie. Leipzig, 1909.

ENDO, Sui rapporti del cancro del retto e le uova dello schistosoma japonicum. (Gann. II, 1910).

FABOZZI, Azione dei blastomiceti sull'epitelio trapiantato nelle lamine corneali, ecc. (Arch. de Parasit., VIII, IX, 1904-5).

FABRE-DOMERGUE, De l'origine coccidienne du cancer. (Annal. de Micrographie, 1894 ; Rif. med., 1897).

FAVRÉ, De la contagion du cancer. Paris, 1892.

FICHERA, Etiologia del cancro. (Atti Soc. it. di Chirur., XXII Adun. Roma, 1909).

FOÀ, Sui parassiti e sull' istologia patologica del cancro. (Arch. per le sc. med., 1893) ; (Policlinico, 1894) ; Sull'etiologia del cancro (XI Congr. inter. di med. Roma, 1894) ; Il cancro. (Soc. it. di Patol. IV Riun. Pavia, 1907).

FOULERTON, Jour. of Path. a. Bact., 1899.

FRAENKEL u. MUCH, Bemerkungen zur Atiologie der Hodgkinschen Krankheit, ecc. (Münch. Med. Woch., 1910).

FRANCHETTI e CAZZANIGA, Intorno all'azione patogena dei blastomiceti. (Sperimentale, LXIV, IV, 1910).

FUMAGALLI e ALFIERI, Sulla presenza di forme blastomicetiche, ecc. (Gior. R. Acc. di Med. di Torino, 1897).

GAYLORD, Eight annual report of the work of the cancer, ecc. (Buffalo N. V., 1908); The protozoon of cancer. (The Amer. Jour. of the med. sc., 1901).

GALLI VALERIO, Notes de parasitologie et de technique, ecc. (Centr. f. Bact., XXXIX, 1905).

GOBEL, Ueber die bei Bilharziakrankheit vorkommenden Blasentumoren, ecc. (Zeitsc. f. Krebsfor., III).

GUARNIERI, Ricerche sull'etiologia della congiuntivite tracomatosa. (Soc. tosc. di Sc. nat. 1890 ; La clinica moderna, 1896) ; Sulla etiologia dell' infezione vaccinica. (Annali delle Università toscane, XXIX, Pisa, 1909).

v. HANSEMANN, Formative Reize und Reizbarkeit. (Zeitsc. f. Krebsf., VII, 1908).

HERXHEIMER u. REINKE, Allgemeines zur Geschwülstlehre, ecc. (Ergebn. d. Allg. Path., XIII, II Ab., 1909).

HOSEMANN, Med. klin., 1905.

KAHANE, Der Parasit der bösartigen Geschwülste. (Centr. f. allg. Path., 1896; Semaine médic., 1895; Presse médic., 1895; Wien. med. Presse, 1896; Hyg. Rund., 1896; Centr. f. Bact. 1894-95).

KARWACKI, Beitrag zur Kenntnis der Geschwülstflora. (Centr. f. Bact., XXXIX, 1905).

KELLING, Statistik über die Häufigkeit von Eingeweidewürmern bei Krebsen des Verdauungstraktus. (Wien. klin. Woch., 1909; Wien. Med. Woch., 1903-4; Münch. Med. Woch., 1904).

KLEBS, Ueber das Wesen und die Erkennung des Carcinombildung. (Deut. Med. Woch., 1890).

KRÄMER, Zur Aetiologie von Carcinoma des Uterus. (Centr. f. Gynäk., 1899).

KREMER, Ueber das Vorkommen von Schimmelpilzen bei Syphilis, Carcinom und Sarcom. (Centr. f. Bact., 1896).

KOROTNEFF, Sporozoen als Krankheitserreger, ecc. Berlin, 1893; Rhopalocephalus carcinomatosus, ecc. (Centr. f. Bact. XII, 1893).

KURLOFF, Zur Lehre von den Carcinomparasiten. (Centr. f. Bact., XV, 1894).

MC. JNTOSH, On the absence of spirochaetes in mouse tumours. (Centr. f. Bact., LIV, 1910).

JENSEN, Ueber di Entwickelung der durch subkutane Einimpfung von Saccharomyces neoformans (Sanfelice) hervorgerufenen Knötchen. (Zeitsch. f. Hyg., XLIV, XLV, 1903-904).

JURGENS, Recherches expérimentales sur l'étiologie des sarcomes. (Semaine méd., 1896).

LANGDON FROTHINGAM, Jour. of med. Resear., VIII, 1902.

LEYDEN, Die Krebsaetiologie. (Zeits. f. klin. med., XLIII, 1902).

LEOPOLD, Untersuchungen zur Aetiologie des Carcinoms und über die pathogenen Blastomyceten. (Arch. f Gynäkol., LXI, 1899-1900).

LEWIN, Experimentelle Krebsforschung und Infektionstheorie. (Deut. med. Woch., 1909); Die bösartigen Geschwülste. Leipzig, 1909.

LOEB, Ueber das endemische Vorkommen des Krebses beim Tiere. (Centr. f. Bact,, XXXII, 1904).

LÖVENTHAL, Zeitsch. f. Krebsfor., 1905.

LUBARSCH, Zur Lehre von Geschwülsten u. Infektionskrank. (Centr. f. Bact. 1899).

LUSTIG, Patologia generale. Milano, 1905; Teorie e sperimenti intorno all'eziologia dei tumori maligni. (Sperimentale, LXIV, II, 1910).

MAFFUCCI e SIRLEO, Sulla causa infettiva blastomicetica dei tumori maligni. (Policlinico, 1897, 1895; Zeitsch. f. Hyg., 1898).

MASSARI e FERRONI, Intorno ai supposti parassiti del cancro. (Rif. med., 1893).

MALCOM, Gewisse von Krebs isolirte Organismen, ecc. (Lancet, 1899).

MARAGLIANO D., Il sangue dei carcinomatosi. (Gazz. d. Osped., 1901).

MARCONE, I blastomiceti nell'etiologia dei tumori maligni. (Il nuovo Ercolani, 1896).

MARTINOTTI, Sulla presenza dei corpuscoli di Russell nella corteccia, ecc. (Ann. di Freniat., 1895).

MENETRIER, Cancer. Paris, 1909.

MILLER, Ueber Krebsparasiten bei Carcinoma uteri. (Centr. f. Bact., XV, 1894).

MORESCHI, Fatti e problemi nuovi dell'indagine biologica sui tumori maligni. (Rel. al XIX Congr. di Medic. int., 1909).

MÜLLER, Ueber Parasiten in Uteruscarcinom. (Arch. f. Gynäk., XLVIII, 1895; Schmidt's. Jahresb., 1886; Virch. Arch., 130).

NÉGRE, Quelques recherches sur le cancer spontané et le cancer expérimental de souris, (Ann. Inst. Past., XXIV, 1910).

NESCZADIMENKO, Zur Pathogenese der Blastomyceten. (Centr. f. Bact., 1899).

NICHOLS, First annual Report of Work. on te Etiology of cancer. (F. an. Rep. of. the cancer Comittee. Boston, 1900).

v. NIESSEN, Ueber Krebserreger. (Centr. f. d. med. Wissens., 1894).

NILS SJÖBRING, Ueber die Mikroorganismen in des Geschwülsten. (Centr. f. Bact., XXVII, 1900 ; (Arch. f. klin. Chirur., Bd. 65 ; Fortsch. d. med., 1890).

OHLMACHER, A critique of. the Sporozoon theory of malignant neoplasms, ecc. (The Jour. of the Amer. med. ass., 1894).

OLT, Die Suche nach der Ursache des Krebses. (Deut. Med. Woch., 1900).

ORLOW, Des parasites du cancer. Wratsch, 1897.

ORTH, Ueber die Krebsgeschwülst des Menschen. (Sitz. bericht. d. K. Pr. Akad. d. Wiss., V, 1909).

PARK, Untersuchungen über die Aetiologie des Krebses. (Centr. f. Chirur., XXV ; Münch. med. Woch., 1899).

PETERSEN u. EXNER, Ueber Hefepilze und Geschwülst-Bildung. (Beitr. z. klin. Chirur. XXV, 1899).

PFEIFFER L., Der Parasitismus des Epithelialcarcinoms, ecc. (Centr. f. Bact., XIV, 1893) ; Untersuchungen über den Krebs, ecc. Iena, 1893.

PIANESE, Sulla natura dei corpi cancerosi. (Gior. intern. d. Sc. med.

1895); Beitrag zur Histologie und Aetiologie des Carcinoms. Iena, 1896.

PLIMMER, On the Aetiology and Histology of cancer, ecc. (The Practitioner, 1894; Centr. f. Bact., XXV, 1899).

PODWISSOZKI, Ueber die experimentelle Erzeugung von parasitären Myxomicetengeschwülsten, ecc. (Zeits. f. klin. med., XLVII; Centr. f. Bact., XXVII, 1900; Congr. inter. d. med. d. Parigi, 1900; Centr f. Bact., XV, 1894; Zeits f. Krebsfor., VII, 1909; Ziegl. Beitr., XLVII, 1909).

PODWISSOZKI u. SAWTSCHENKO, Ueber Parasitismus bei Carcinom, ecc. (Centr. f. Bact., 1892).

PROFÈ, Mitt. a D. Schmidts Lab. f. Krebsf., 1905.

RABINOWITSCH, Untersuchungen über patogenen Hefeart. (Zeitscr. f. Hyg. XXI, 1895).

RAMON Y CAYAL, Estudios histologicos sobre los tumores epiteliales. (Riv. trim. microg., II, 1896).

RAZZABONI, Contributo clinico e anatomopatologico allo studio dei sarcoidi, ecc. (Clin. chirurg., 1909).

RIBBERT, Ueber Einschlusse im Epithel der Carcinome. (Deut. med. Woch., 1891); Geschwülstlehre. Bonn., 1904; Die neuere Untersuchungen über Krebsparasiten. (Deut. Med. Woch., 1894).

ROBERTSON, Experimental evidance of the infective origin of carcinoma. (Lancet, 1909).

RONCALI, Stato presente delle nostre cognizioni sopra l'etiologia del cancro. (Soc. it. di chirurg., 1897); ed inoltre: (Policlinico, 1895 e 1896; Centr. f. Bact., XVIII, 1895, XX, 1896, 1897).

ROSSI, I corpuscoli a fuxina di Russell. (Rif. med., 1893).

ROSSI DORIA, I blastomiceti nel sarcoma puerperale infettante. (Policlinico, 1896); La teoria blastomicetica del cancro. (Policlinico, 1896).

RUFFER, Sui parassiti del cancro. (XI Congr. inter. Med. Roma, 1894) e Bouchard « Patholog. gener. », Vol. II, Paris, 1896.

RÜFFER e PLIMMER, Further researches on some parasitic protozoa found in cancerous tumours. (Jour. of. Path. a Bact., 1893).

RUFFER e WALKER, On some parasitic protozoa, ecc. (Ibid.).

RUSSEL, Die Mikroorganismen des Carcinoms. (Wien. med. Blat., 1891; Britis. med. Jour., 1890; Lancet, 1899).

SANFELICE, Tossine e antitossine dei blastomiceti patogeni, ecc. (Ann. d'Ig. sperim., 1908); Sull'azione dei prodotti solubili dei blastomiceti, ecc. (Ann. d'Ig. sper. 1906-7-8). Inoltre: (Policlinico, II, 1895; Centr. f. Bact.. XLI, 1906; Zeits. f. Hyg., 1896-7-8-1902;

Centr. f. Bact., 1895-1898-1903; Annali d' Ig. sper., 1895-1896-1903).

SANTORI, Sopra un nuovo blastomicete patogeno. (Rif. Med., 1903).

SAUL, Untersuchungen zur Aetiologie und Biologie der Tumoren. (Centr. f. Bact., XLII, 1906; XLIII, 1907; XLVII, 1908; XLIX, 1909; L, 1909; LII, 1909; LV, 1910).

SAWTSCHENKO, Weitere Untersuchungen über die Krebsparasiten. (Centr. f. Bact., XV. 1894-1892; Arch. russ. de Path., 1898).

SCHEUERLEN, Ueber die Aetiologie des Carcinoms. (Deut. med. Woch., 1887).

SCHMIDT O. Ueber einen protozoenähnlichen Mikroorganismus in malignen Tumoren, ecc. (Münch. med. Woch., 1906; Monatsh. f. Geburt. u. Gynäc., Bd. 17; Mitteil. a D. Schmidts. Labor. f. Krebsf., 1905; Centr. f. Bact., XLVII, 1908, LII, 1909).

SCHUBERG, Zur Beurteilung der nach O. Schimidt in malignen Tumoren, ecc. (Münch. Med. Woch., 1906).

SCHULLER, Die parasiten in Krebs und Sarcom des Menschen, Jena, 1901. Parasitare Krebsforschung, ecc. Berlin, 1903; (Centr. f. Bact., XXVII, 1900; XXXVII, 1904; XL, 1996).

SCHÜTZ, Ueber die protozoen und coccidienartiger Mikroorganismen in Krebszellen. (Münch. med. Woch., 1890).

SECCHI, L' azione patogena dei blastomiceti e la loro importanza nei tumori. (Gior. it. d. mal. ven. e sifil., 1897).

SICCIARDI, Inoculazione ed esame dal lato batterico, ecc. (Rif. med., 1894).

SIMMONDS, Ueber das Vorkommen von Spirochaeten in zerfallenen Karzinomen. (Verhand. d. Deut. Path. Ges., 1908).

SNOW, The so called parasitic-protozoa of mammary carcinoma. (Lancet, 1893).

SOUDAKEWITCH, Parasitisme intracellulaire des neoplasies cancéreuses. (Ann. Inst. Past., VI. 1892; Centr. f. Bact., 1893).

STECKSEN, Studien über Curtis Blastomyceten, ecc. (Ref. Centr. f. Bact., XXIX, 1901).

STEINHAUS, Ueber Carcinomeinschlusse. (Virch. Arch., 126, 1891, 127, 1892); Untersuchungen über ein neue menschen und tierpathogenen Hefeart. (Centr. f. Bact., XLIII, 1907).

STERNBERG, Experimentelle Untersuchungen über pathogene Hefen. (Ziegl. Beitrag., XXXII, 1902); Ueber die Zelleinschlusse in Carcinomen, ecc. (Centr. f. Path., 1899).

STEVEN a. BROWN, On the so called parasitic Protozoa of Cancer. (Jour. of Pat. a. Bact., 1893).

STROEBE, Zur Kenntniss verschiedener cellulär Vorgänge, ecc. (Ziegl. Beitr., 1892).

TSUNODA, Sui rapporti fra Demodex folliculorum e cancro della mammella. (Zeitsc. f. Krebsf., VIII, 1910).

UNNA, Parasiten und Pseudoparasiten des Carcinoms. (V Intern. Dermat. Kong. Berlin, 1905).

VEDELER, Das Sarcomsporozoen. (Centr. f. Bact., XVI, 1884, XVII, 1895, XXXVIII, 1905; Deut. med. Woch., 1908).

VERATTI, Lo stato attuale degli studi sul cancro. (Rel. XIX Congr. di Med. int., ottobre 1909).

WILLOUGHBY MILLER, Sui corpi di Russell. (Virch. Arch., 199, 1910).

WLAEFF, Les blastomycètes dans la pathologie humaine. (Presse med., 1901).

WLAEFF et WEINBERG, Examen histologique des tumeurs provoqués, ecc. (Bull. d. Soc. Anat. de Paris, 1899).

THOMAS, Le Cancer. Paris, 1910.

TOISON, Présence des corpuscules parasitaires oviformes dans un fibrosarcome, ecc. (C. R. Soc. d. Biol., 1890).

TÖRÖK, Die protozoenartigen Gebilde des Carcinoms, ecc. (Monat. f. pr. Dermat., 1893).

YAMAGIVA, Osservazioni sul lavoro di Endo sui rapporti tra cancro e uova di schistosoma japonicum. (Gann., Vol. II, fasc. 2, 1910).

Spiegazione delle figure.

TAVOLA VII.

FIGURA 1. — Pseudotumore dell'epiploon della Cavia 86 (*blastomicete 3*). Grandezza naturale.

FIGURA 2. — Sezione dello stesso pseudotumore. Ingr. 100 d.

TAVOLA VIII.

FIGURA 3. — Polmone della Cavia 44 (*Saccharomyces neoformans*). Focolai di blastomiceti. Ingr. 100 d.

FIGURA 4. — Lo stesso. Cellule epitelioidi e giganti in un focolaio di blastomiceti. Ingr. 450 d.

TAVOLA IX.

FIGURA 5. — Ghiandola linfatica della Cavia 132 (*blastomicete 3*). Desquamazione degli endoteli nei seni linfatici. Ingr. 500 d.

FIGURA 6. — Ghiandola linfatica della Cavia 55 (*blastomicete 4*). Noduli sclerotici contenenti blastomiceti scolorati. Ingr. 350 d.

TAVOLA X.

FIGURA 7. — Noduli dell'epiploon del Ratto 63 (*blastomicete 3*). Tessuto di aspetto sarcomatoso; nel preparato originale si vedono residui scolorati di blastomiceti. Ingr. 550 d.

FIGURA 8. — Fegato del Ratto 13 (*Saccharomyces neoformans*). Granuloma; nel preparato originale si vedono residui di blastomiceti nell' interno delle cellule giganti. Ingr. 550 d.

Fig. 1

Fig. 2

Dr. A. FRANCHETTI.

Istituto Micrografico Italiano - Firenze.

Fig. 3

Fig. 4

Dr. A. FRANCHETTI.

Istituto Micrografico Italiano - Firenze.

Fig. 5

Fig. 6

Dr. A. FRANCHETTI.

Istituto Micrografico Italiano - Firenze.

Fig. 7

Fig. 8

Dr. A. FRANCHETTI.

Istituto Micrografico Italiano - Firenze.